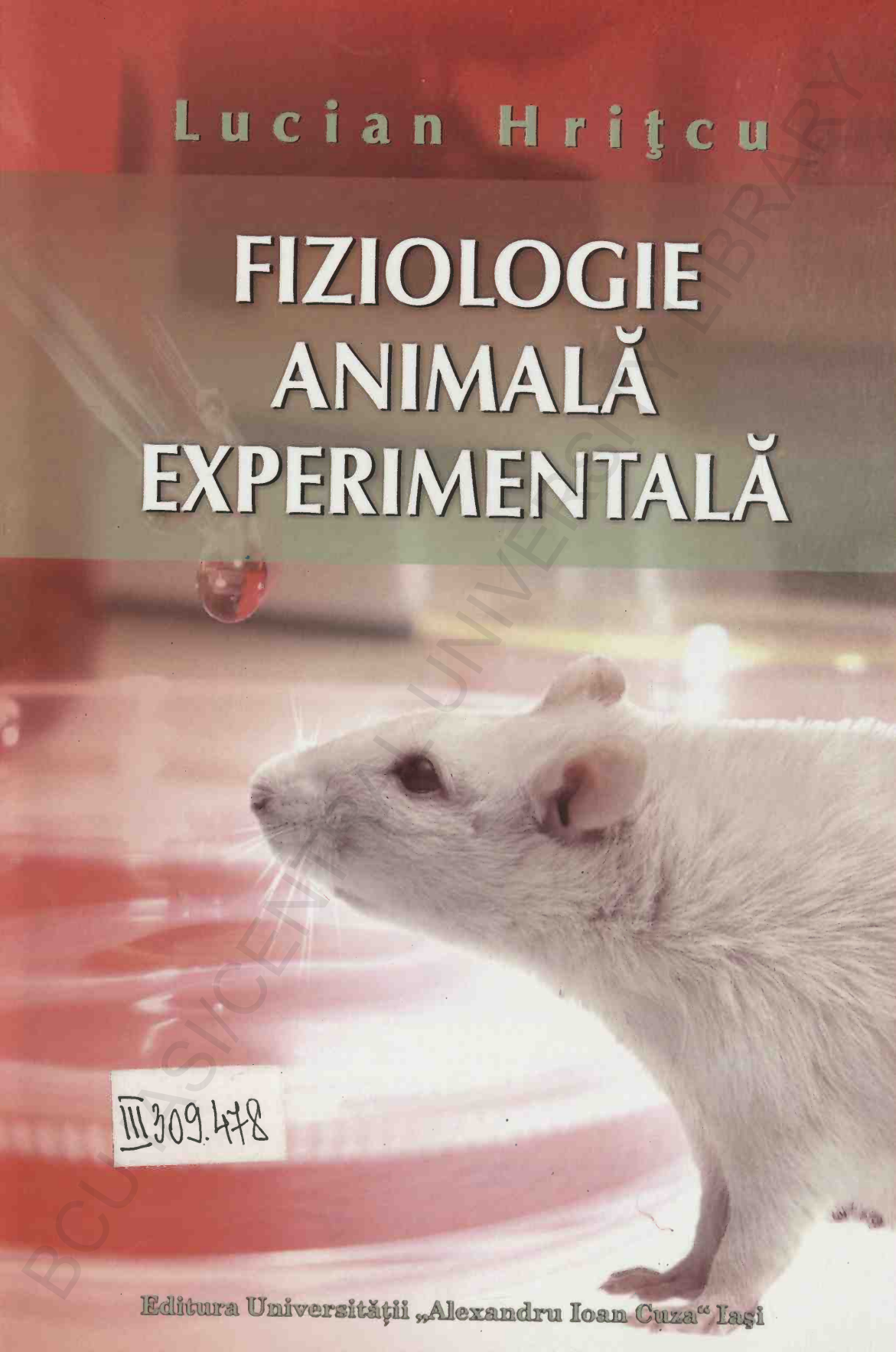
Lucian Hriţcu

FIZIOLOGIE ANIMALĂ EXPERIMENTALĂ



III 309.478

Editura Universităţii „Alexandru Ioan Cuza" Iaşi

BCU IAŞI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BIBL. CENTR. UNIV.
„M. EMINESCU" IAȘI
III 309. 478

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Lucian Hrițcu

FIZIOLOGIE ANIMALĂ EXPERIMENTALĂ

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Referenți științifici:
Prof.univ.dr. Costică Misăilă
Universitatea „Alexandru Ioan Cuza" din Iași,
Departamentul de Biologie
Prof.univ.dr. Monica Hăncianu
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr.T. Popa" Iaşi,
Departamentul de Farmacognozie

Redactor: Elena Buscă
Coperta: Manuela Oboroceanu
Tehnoredactor: Luminiţa Răducanu

ISBN 978-973-703-849-4

© Editura Universităţii „Alexandru Ioan Cuza", 2012
700109 – Iaşi, str. Pinului, nr. 1A, tel./fax: (0232) 314947
http:// www.editura.uaic.ro e-mail: editura@uaic.ro

2 7 IUN. 2013

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Lucian Hrițcu

659838

FIZIOLOGIE ANIMALĂ EXPERIMENTALĂ

ALE

Editura Universităţii „Alexandru Ioan Cuza" Iaşi
2012

1006817
BCU IASI

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale a României
HRIŢCU, LUCIAN
Fiziologie animală experimentală / Lucian Hriţcu. - Iaşi : Editura Universităţii „Al. I. Cuza", 2012
Bibliogr.
ISBN 978-973-703-849-4

619::612

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CUPRINS

Cuvânt înainte 9

Capitolul 1
Fiziologia mușchilor și a nervilor 11
1.1. Extras din normele de protecţia muncii în laboratorul de fiziologie animală 11
1.2. Aparate şi dispozitive de laboratorpentru lucrările de fiziologia muşchilor 12
1.3. Preparatul neuromuscular sciatic-gastrocnemian 14
1.4. Extensibilitatea și elasticitatea musculară 17
1.5. Înregistrarea şi analiza secusei muşchiului gastrocnemian 21
1.6. Contracţiile tetanice 24
1.7. Volumul mușchiului contractat 27
1.8. Contracția mușchilor netezi 29
1.9. Oboseala musculară 31
1.10. Metoda biologică pentru demonstrarea fenomenelor bioelectrice în țesuturile excitabile 35
1.10.1. Experienţa lui Galvani (contracţia fără metal) pentru demonstrarea curentului de repaus 35
1.10.2. Experienţa lui C. Matteucii (tetanos secundar) pentru demonstrarea curentului de acţiune 36
1.11. Electromiografia 37
1.11.1. Electromiografia globală la om 39
1.11.2. Electromiografia elementară la animale 40
1.12. Legile reflexelor exteroceptive medulare (Legile lui Pflüger) 40
1.13. Analiza actului şi arcului reflex 43
1.14. Determinarea timpului reflex după Türk 44
1.15. Reflexele miotatice cu importanţă clinică 45

Capitolul 2
Fiziologia analizatorilor 49
2.1. Sensibilitatea tactilă. Pragul spațial. Esteziometria 49
2.2. Experiența lui Aristotel 50
2.3. Sensibilitatea termică 51
2.3.1. Termoesteziometria 51
2.3.2. Zona termică fiziologică zeroşi modificările ei adaptative 52
2.4. Sensibilitatea dureroasă 53
2.5. Determinarea pragului sensibilităţii gustative 54
2.5.1. Harta câmpurilor gustative de pe limbă 54

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

2.6. Determinarea pragului absolut și diferențialal analizatorului motor .. 56
2.7. Analizatorul acustic 57
2.7.1. Rolul pavilionului urechii 57
2.7.2. Transmiterea sunetelor prin oasele cutiei craniene 58
2.8. Extirparea aparatului vestibular la broască 61
2.9. Analizatorul optic 63
2.9.1. Excitarea mecanică a ochiului 63
2.9.2. Acuitatea vizuală (testul Snellen) 63
2.9.3. Testarea astigmatismului 65
2.9.4. Acomodarea ochiului 66
2.9.5. Vederea colorată 66
2.9.6. Demonstarea petei oarbe. Experienţa lui Mariotte 68
2.9.7. Determinarea câmpului vizual 69

Capitolul 3
Fiziologia sângelui 71
3.1. Numărarea elementelor figurate 71
3.1.1. Numărarea eritrocitelor 71
3.1.2. Numărarea leucocitelor 75
3.2. Hematocritul 77
3.2.1. Microhematocritul 78
3.3. Dozarea hemoglobinei cu ajutorul colorimetrului Sahli 80
3.4. Dozarea cantitativă a proteinelor serice refractometric 81
3.5. Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) 83
3.6. Determinarea grupelor sangvine 86
3.6.1. Determinarea aglutinogenelor 87
3.7. Determinarea factorului Rh0 (D) 88

Capitolul 4
Funcțiile de nutriție 91
4.1. Digestia în cavitatea bucală 91
4.1.1. Recoltarea salivei 91
4.1.2. Compoziţia chimică a salivei 92
4.1.3. Evidenţierea substanţelor anorganice 93
4.1.4. Evidenţierea substanţelor organice 93
4.1.5. Rolul salivei în digestie 94
4.1.6. Determinarea concentraţiei amilazei salivare 95
4.2. Compoziţia şi acţiunea digestivă a sucului gastric 95
4.2.1. Obţinerea sucului gastric 96
4.2.2. Dozarea acidităţii sucului gastric 96
4.2.3. Rolul pepsinei în digestie 98
4.2.4. Necesitatea prezenţei HCl pentru acţiunea pepsinei 99
4.2.5. Influenţa pH-ului asupra activităţii pepsinei 99
4.2.6. Evidenţierea produşilor de digestie pepsică 99
4.3. Bila și rolul ei 100

BCU IASI UMF UNIVERSITY LIBRARY

4.3.1. Evidenţierea constituenţilor bilei 101
4.3.2. Acţiunea bilei asupra lipidelor 102

Capitolul 5
Fiziologia inimiişi a sistemului vascular 103
5.1. Caracterizarea electrocardiogramei (EKG) normale 103
5.2. Zgomotele cardiace 106
5.3. Ligaturile lui Stanius 106
5.4. Presiunea arterială la om 110
5.4.1. Metoda ascultatorie 110
5.5. Pulsul arterial 112

Capitolul 6
Fiziologia respiraţiei 115
6.1. Mecanica respiraţiei la mamifere 115
6.1.1. Experienţa lui Donders pentru demonstrarea rolului diafragmei 115
6.2. Auscultaţia plămânilor 117
6.3. Volume şi capacităţi respiratorii. Spirometria 117
6.3.1. Volume respiratorii 118
6.3.2. Capacităţi respiratorii 118

Capitolul 7
Fiziologia encefalului 121
7.1. Tehnica stereotaxică 121
7.1.1. Fixarea animalului în aparatul stereotaxic 121
7.1.2. Marcarea şi trepanarea punctelor coordonate pe craniu ... 125
7.2. Metode de analiză a performanţelor cognitive ale animalelor de laborator 125
7.2.1. Testul labirintului Y 125
7.2.2. Testul labirintului cu braţe radiale 127
7.2.3. Testul labirintului elevated plus maze 129
7.2.4. Testul înotului forţat (forcedswimming test) 130
7.2.5. Testul comportamentului de evitare pasivă prin antrenamente multiple 131
7.2.6. Testul comportamentului de evitare activă (shuttle boxe cage) 134

Summary 137
Bibliografie 139

BCU IASI

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CUVÂNT ÎNAINTE

Lucrarea *Fiziologie animală experimentală* reprezintă un îndrumător de lucrări practice de laborator pentru studenții Facultății de Biologie, Iași, în vederea demonstrării practice a unor aspecte din cadrul cursului de *Fiziologie animală generală*.

La redactarea acestei lucrări s-au avut în vedere următoarele aspecte: de a demonstra procesele fiziologice atât la animale, cât și la om; de a prezenta studenților unele metode moderne și echipamente utilizate în studiul fiziologiei animalelor; de a stimula participarea activă a studenților în înțelegerea fenomenelor studiate.

Aspectele tratate în prezenta lucrare reprezintă rezultatul experienței autorului obținute în cadrul colectivelor conduse de către Prof. dr. Vasile Hefco – Universitatea „Alexandru Ioan Cuza" din Iași, precum și Prof. dr. Costică Misăilă – Universitatea „Alexandru Ioan Cuza" din Iași, precum și în urma consultării bibliografiei de specialitate.

Autorul își exprimă recunoștința tuturor celor care i-au prezentat sau îi vor prezenta sugestii referitoare la conținutul lucrării în scopul îmbunătățirii activității de laborator și a colaborării cu studenții.

BCU IASI/CETATEA CULTURII
B.C.U. „M. EMINESCU" IAȘI

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CAPITOLUL 1

FIZIOLOGIA MUȘCHILOR ȘI A NERVILOR

1.1. Extras din normele de protecţia muncii în laboratorul de fiziologie animală

1) Personalul laboratorului, cadrele didactice şi studenţii au obligaţia ca pe timpul desfăşurării şedinţelor de lucrări practice să îmbrace un halat de protecţie de culoare albă.
2) Prizele din laborator situate sub tencuială sau pe masa de lucru vor fi prevăzute cu etichete pe care se înscrie tensiunea curentului de alimentare.
3) Se interzice introducerea în prize a unor conductori sau piese metalice dezizolate, precum şi a firelor de conexiune cu care se lucrează la curenţi slabi.
4) În timpul folosirii becului de gaz metan, poziţia crestăturii robinetului este paralelă cu conducta de aducţiune (poziţia „deschis"), iar după terminarea lucrului, robinetul va rămâne în poziţia „închis", cu crestătura perpendiculară pe conducta de alimentare cu gaz.
5) În timpul lucrului în laboratorul de fiziologie animală vor fi respectate toate normele de prevenire a accidentelor şi protecţie a muncii specifice şi celorlalte laboratoare, referitoare la: utilizarea curentului electric de iluminat şi forţă, a gazului metan, a oxigenului îmbuteliat, precum şi a substanţelor chimice iritante, caustice sau explozive.
6) Este obligatorie respectarea instrucţiunilor de lucru şi a destinaţiei specifice fiecărui aparat sau instalaţie din dotarea laboratorului.
7) La părăsirea laboratorului se verifică deconectarea tuturor aparatelor de la sursa de curent, curăţirea şi aranjarea

ordonată a acestora pe masa de lucru, închiderea ferestrelor încăperii, precum şi a apei, gazului şi luminii.

1.2. Aparate şi dispozitive de laborator pentru lucrările de fiziologia muşchilor

Sursa de curent continuu este o baterie de acumulatori formată din 5 elemenţi a câte 1,5 V fiecare; în funcţie de specificul fiecărei lucrări se va folosi un număr mai mare sau mai mic de elemenţi, corespunzător tensiunii necesare. Trebuie evitată scurtcircuitarea între bornele acumulatorului întrucât se epuizează curentul acumulat şi pot surveni chiar accidente. De asemenea, se interzice conectarea acumulatorului direct la reţeaua de 220 V.

Întrerupătorul manual este un întrerupător cu mercur care se conectează la circuitul de stimulare al unui preparat biologic. Se recomandă ca, după folosire, întrerupătorul montat în circuit sa rămână pe poziţia „deschis", pentru a evita descărcarea acumulatorului, precum şi supraîncălzirea sau chiar deteriorarea înfăşurărilor bobinei de inducţie. Întrerupătorul deconectat din circuit va rămâne tot pe poziţia „deschis", pentru a evita oxidarea extremităţilor punţii metalice, care vin în contact cu mercurul.

Bobina de inducţie este un dispozitiv folosit pentru producerea curenţilor cu intensitate variabilă, necesari stimulării preparatelor biologice. Bobina este formată din două înfăşurări: primarul (bobina fixă cu diametrul mai mic) şi secundarul (bobina mobilă şi cu diametrul mai mare). Prin deplasarea secundarului către primar se obţine în mod gradat (în secundar) un curent indus de intensităţi crescânde. Cele două înfăşurări nu se vor conecta niciodată în acelaşi circuit, ci se vor lega totdeauna primarul în circuitul de alimentare, iar secundarul în circuitul de stimulare. În alcătuirea bobinei de inducţie se găseşte şi întrerupătorul electromagnetic Wagner care se introduce în circuit în locul primarului şi funcţionează prin intermediul lamelei vibratile. Aceasta închide şi deschide rapid şi repetat circuitul, transmiţând către preparat impulsuri cu frecvenţa foarte mare, necesare producerii contracţiilor tetanice.

Semnalul electromagnetic Deprez este un dispozitiv special, format dintr-o bobină şi o peniţă înscriitoare, care serveşte la

localizarea pe grafic a momentului aplicării excitantului necesar pentru a analiza evoluţia în timp a procesului contractil. Pentru înregistrarea corectă a secuseipeniţa semnalului Deprez şi cea a miografului (legată de tendonul muşchiului analizat) se vor aşeza pe aceeaşi linie de pe generatoarea cilindrului kimografului şi vor înscrie simultan.

Miograful Marey este un dispozitiv format dintr-o placă dreptunghiulară din plută pe care se aşează preparatul biologic în timpul înregistrării contracţiei şi o peniţă cu prelungitor de care se leagă tendonul muşchiului gastrocnemian. Miograful este prevăzut cu o pârghie cu excentric cu care se poate tensiona la nevoie muşchiul.

Kimograful electric este un aparat care înregistrează mişcarea peniţelor înscriitoare. Aparatul este compus dintr-un cilindru acoperit cu hârtie lucioasă, înnegrită prin afumare la o flacără, şi dintr-un mecanism de acţionare. Motoraşul electric învârte cilindrul în jurul axului său longitudinal, iar suprafaţa înnegrită a hârtiei vine în contact cu cele două peniţe. Aparatul are o cutie de viteze şi un panou de comandă, cu butoanele de acţionare. El va fi reglat la viteză mare când înregistrăm secusa muşchilor striaţi, care au o reactivitate mult mai mare decât cei netezi, şi la viteză mică atunci când înscriem contracţia tetanică. Pe panou există şi un buton de schimbare a sensului de rotaţie a cilindrului. Pentru acţionarea inversorului de sens este obligatorie oprirea în prealabil a aparatului.

Kimografulmecanic este un aparat asemănător kimografului electric cu deosebirea că sistemul de acţionare al cilindrului este pe bază de mecanism de ceas, nu are inversor de sens, iar modificarea vitezei de rotaţie a cilindrului se face cu ajutorul unei role glisante, care culisează pe axul de acţionare şi antrenează cilindrul prin intermediul unui disc orizontal. Prin apropierea rolei de centrul discului se imprimă acestuia o viteză din ce în ce mai mare, iar prin deplasarea rolei spre periferia discului, viteza de rotaţie a cilindrului kimografului se micşorează. Modificarea vitezei de rotaţie a cilindrului se mai poate face şi prin montarea deasupra mecanismului de ceas a unei piese de frânare, în formă de elice cu două aripioare confecţionate din tablă. Prin frecare cu aerul, în funcţie de mărimea aripioarelor, acestea opun o oarecare rezistenţă şi imprimă cilindrului o viteză de rotaţie controlabilă.

Diapazonul electric este o piesă metalică, cu două braţe paralele şi o bobină electrică. Prin magnetizare miezul bobinei atrage unul dintre braţele diapazonului, care, după închiderea circuitului, revine la poziţia iniţială datorită elasticităţii şi ciclul se reia. În felul acesta, diapazonul închide şi deschide circuitul de alimentare de 100 ori într-o secundă, adică are o frecvenţă de 100 Hz. Această caracteristică face ca diapazonul să fie folosit la înregistrarea timpului pe graficul secusei musculare, pentru analiza evoluţiei în timp a curbei contracţiei, adică aprecierea duratei fiecărei porţiuni din secusă. Diapazonul este deci un întrerupător care se introduce în circuitul de alimentare în locul bobinei primare, iar timpul se va înscrie sub secusă, utilizând peniţa semnalului electromagnetic.

Cronograful electric este un aparat cu aceeaşi utilizare ca şi diapazonul electric, adică se foloseşte pentru înscrierea pe diagramă a timpului. Deosebirile faţă de diapazon constau în aceea că acest instrument nu se montează în circuitul de alimentare, ci se conectează la reţeaua de 220 V, şi prezintă o peniţă înscriitoare proprie, care marchează sub secusă un traseu caracterizat printr-o deflexiune la fiecare secundă. Cronograful foloseşte la înregistrarea timpului în cazul secusei muşchilor netezi la care durata unei contracţii complete depăşeşte 1-2 minute.

Excitatorul este un dispozitiv metalic alcătuit din două braţe cu vârfuri ascuţite şi curbate în semicerc pe care se sprijină nervul ce urmează să fie excitat electric, iar la extremitatea opusă are două şuruburi pentru reglajul poziţiei de lucru şi două borne, prin care se leagă în circuitul de stimulare, pe care-l formează împreună cu secundarul bobinei de inducţie. Pentru fixarea excitatorului pe pluta miografului acesta prezintă o tijă metalică terminată cu două vârfuri ascuţite.

1.3. Preparatul neuromuscular sciatic-gastrocnemian

Pentru demonstrarea proprietăţilor muşchilor şi a nervilor, se pot folosi ***preparatele neuromusculare***, formate dintr-un *muşchi şi nervul său motor*. Obişnuit, se utilizează ***preparatul neuromuscular sciatic-gastrocnemian*** de broască. Acest preparat poate fi detaşat

complet din organism (*in vitro*) sau poate fi lăsat *in situ*, în care caz se păstrează irigarea lui normală.

Material necesar: soluţie fiziologică, trusă de disecţie, broască.

Mod de lucru: **Preparatul neuromuscular *in vitro***: Se paralizează broasca. Se secţionează circular tegumentul la nivelul abdomenului şi se trage în jos cu o mănuşă (Figura 1a); uneori este necesar de a secţiona tegumentul la nivelul anusului. Cu o pensă prindem vârful urostilului pe care-l secţionăm cu o foarfecă, având grijă de plexul venos dedesubt. Se disociază longitudinal muşchii coapsei şi se descoperă nervul sciatic (Figura 1b), localizat sub muşchiul ileofibularis. Nervul se prezintă ca un fir de aţă alb ce merge paralel cu artera femurală. Cu o baghetă de sticlă îndoită la vârf prindem nervul şi cu ajutorul unei pense se eliberează nervul de fascie şi ramurile arterei femurale pe tot traseul său până la locul de emergenţă din măduva (Figura 1c). Se secţionează ramificaţiile nervoase fine ce se desprind din nerv la nivelul articulaţiei şoldului şi mai jos. În toate aceste etape trebuie avută grijă de a nu se presa sau întinde prea tare nervul. Se secţionează nervul sciatic la locul de emergenţă din măduvă după care-l întindem de-a lungul muşchiului gastrocnemian. Se secţionează piciorul cu o foarfecă în apropierea centurii pelviene. Introducem lama bisturiului sub tendonul lui Achile pe care-l secţionăm. După secţionarea osului tibia şi fibula sub articulaţia genunchiului obţinem preparatul neuromuscular sciatic-gastrocnemian. Până la folosire se conservă preparatul în soluţie Ringer rece şi aerisită. Pe tot timpul experienţei muşchii şi nervii trebuie menţinuţi umectaţi cu soluţie Ringer. În cazul apariţiei contracţiilor spontane ale muşchiului determinate de apariţia impulsurilor în nervul care a început să se usuce trebuie pus nervul în soluţie Ringer.

Preparatul neuromuscular *in situ*: se secţionează circular tegumentul la baza membrului posterior şi se denudează piciorul. Se disociază muşchiul gastrocnemian. Cu ajutorul unei pense stomatologice se introduce un fir de aţă pe sub tendonul lui Achile şi se leagă strâns după care se secţionează tendonul distal faţă de ligatură. Inserţia proximală a muşchiului gastrocnemian se păstrează intactă. Această articulaţie fixată cu bolduri în masa miografului va constitui întotdeauna capătul fix al preparatului neuromuscular,

iar tendonul conectat cu firul de aţă la peniţa înscriitoare va constitui capătul mobil.

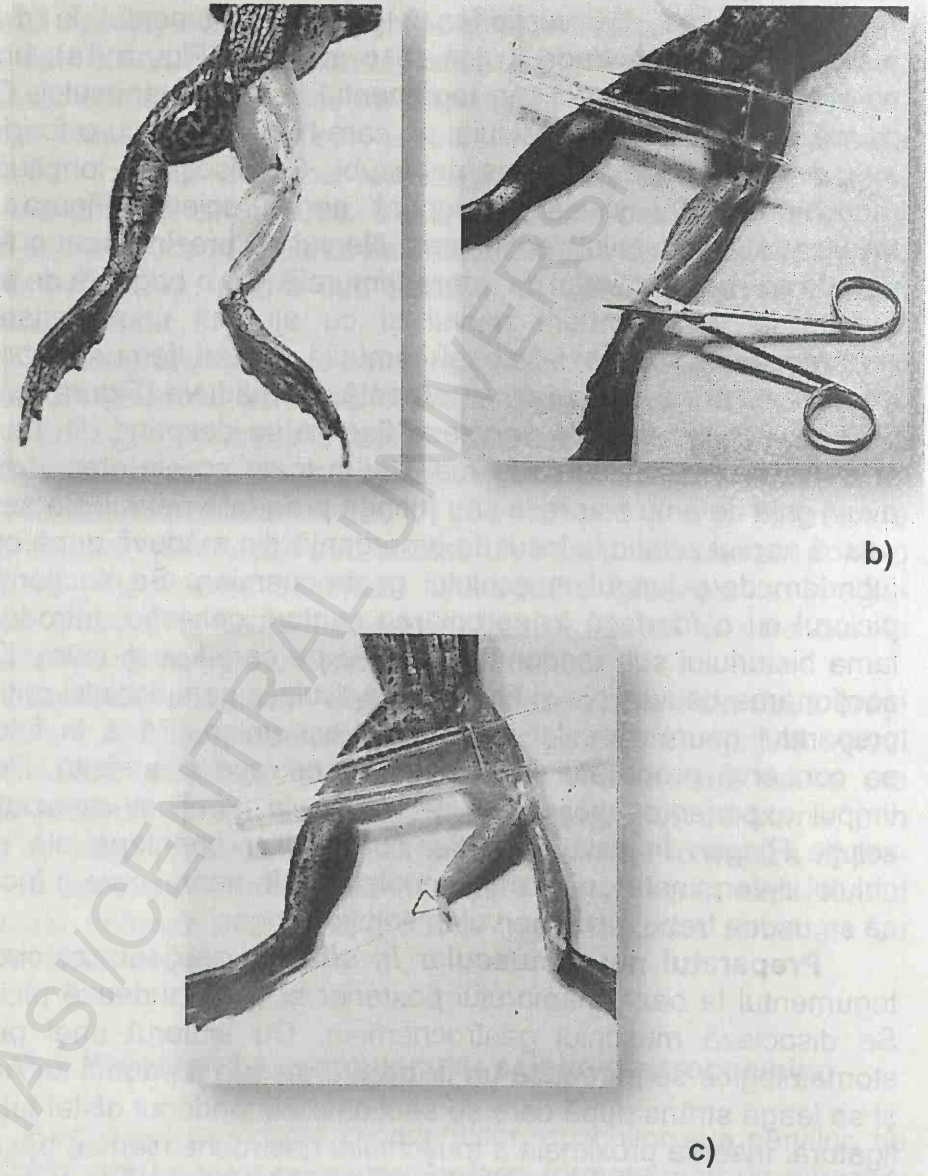


Figura 1. Etapele succesive ale pregătirii preparatului neuro-muscularsciatic-gastrocnemian*in vitro*

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Se izolează nervul sciatic la nivelul coapsei şi se secţionează cât mai aproape de regiunea coccigiană. Pe tot timpul experienţei nervul şi muşchiul trebuie menţinut umed. Preparatul neuromuscular de la broască îşi păstrează timp îndelungat viabilitatea fără a fi nevoie de a se asigura condiţii speciale de temperatură sau oxigenare.

Întrebări de control: Care sunt motivele pentru care se lucrează pe preparatul sciatic-gastrocnemian de broască?

1.4. Extensibilitatea şi elasticitatea musculară

Mușchiul are proprietatea de a se deforma atunci când la una dintre extremități acționează o forță exterioară (*extensibilitatea*) și de a reveni la dimensiunile inițiale atunci când acțiunea forței încetează (*elasticitatea*).

Experimentul lui Marey arată că, dacă firul de care se tractează un obiect este elastic, forţa de tractare necesară va fi cu 25% mai mică decât în cazul în care firul este rigid.

Elasticitatea musculară şi tonusul elastic reprezintă caracteristici de mare importanţă biologică pentru funcţionarea normală a muşchilor pentru că:

- amortizează efectul mecanic în timpul contracţiilor bruşte (rapide) şi puternice, prin care se împiedică producerea rupturilor musculare;
- micşorează inerţia iniţială a mişcărilor, prin care se economiseşte energie;
- transformă vibraţiile bruşte într-un efort continuu, prin care se ameliorează randamentul contracţiilor musculare.

Modelul mecanic al elasticităţii muşchiului scheletic (Figura 2) poate fi reprezentat ca fiind constituit dintr-o parte contractilă dispusă atât în serie, cât şi în paralel, cu o parte elastică.

Componenta contractilă (CC) este reprezentată în plan structural prin miofilamentele de proteine contractile (actina şi miozina);

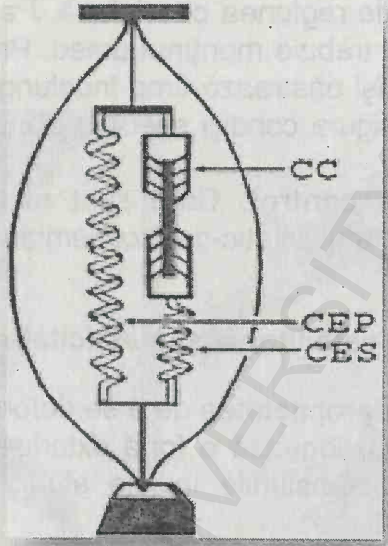


Figura 2. Modelul mecanic al elasticității

Componenta elastică în serie (CES) este reprezentată de următoarele:

- elasticitatea punţilor transversale (articulaţiile segmentelor S_2);
- materialul discurilor Z ale sarcomerelor;
- ţesutul conjunctiv care leagă muşchiul de tendon;
- elasticitatea locurilor de fixare a muşchilor de oase.

Componenta elastică în paralel (CEP) este reprezentată de sistemul de tuburi longitudinale ale RS şi de sarcolema fibrei musculare.

Pentru contracţie, o deosebită importanţă prezintă CES, deoarece scurtarea componentei contractile exercită o întindere a CES, iar tensiunea dezvoltată este transmisă sarcinii externe.

La începutul contracţiei se dezvoltă numai o scurtare a materialului contractil, nedecelabilă la exterior. Când tensiunea astfel dezvoltată în CES devine egală cu greutatea sarcinii, muşchiul începe să se scurteze şi să ridice sarcina.

Muşchii suportă întinderi de până la 150% din lungimea iniţială, existând diferenţe între comportamentul acestora *in vitro*, adică

a celor scoşi din organism, comparativ cu muşchii ce lucrează *in vivo*. În organism, muşchiul se comportă ca un corp perfect elastic, iar dacă efortul este exagerat, apar accidental întinderi musculare. *In vitro*, muşchiul nu se mai comportă ca un corp perfect elastic, la revenire, lungimea acestuia rămânând mai mare decât cea iniţială.

Material necesar: kimograf mecanic, scripete, taler cu greutăţi de 5 g, miograf, broască, trusă de disecţie, fir de aţă.

Mod de lucru: mai întâi se spinalizează broasca, operaţiune prin care se înţelege paralizarea animalului, ca urmare a distrugerii motoneuronilor din măduva spinării, după care se descoperă muşchiul gastrocnemian.

Cu vârful *acului de spinalizat* se evidenţiază articulaţia craniovertebrală, situată la intersecţia axei longitudinale cu o linie imaginară, ce trece prin două puncte situate la limita posterioară a celor două membrane timpanale. Îndoind capul în faţă cu ajutorul degetului arătător de la mâna cu care ţinem broasca, se introduce acul la nivelul articulaţiei, până la o adâncime de 1,5-2 mm, pentru a ajunge la substanţa nervoasă, moment marcat de o tresărire a animalului. Orientăm apoi acul cu vârful spre partea posterioară şi pătrundem pe canal cu mişcări circulare şi de oscilaţie înainte şi înapoi, căutând să distrugem măduva.

Într-o primă fază se observă o contracţie puternică, generalizată a membrelor posterioare, datorită excitării mecanice a motoneuronilor. Apoi, pe măsură ce motoneuronii se distrug, contracţia dispare, iar membrele devin flasce, semn că spinalizarea a reuşit. Pentru evidenţierea *muşchiului gastrocnemian* se practică o incizie tegumentară circulară în zona articulaţiei coxo-femurale a unuia dintre membrele posterioare, după care se trage tegumentul ca un deget de mănuşă, până la dezgolirea completă a membrului.

Cu o baghetă de sticlă cu vârf rotunjit se depărtează gastrocnemianul de os, iar cu vârful unei pensete se trece un fir de aţă pe sub tendonul lui Achile, care apoi se leagă strâns, lăsând un capăt de 15-20 cm, pentru legarea muşchiului de talerul cu greutăţi. Se va secţiona apoi tendonul lui Achile, într-un punct situat distal faţă de legătură. Se trece firul de aţă pe după scripete, după ce s-a imobilizat genunchiul broaştei cu ace pe pluta miografului, aşa cum se vede în Figura 3.

În mişcarea sa, dată de adăugarea succesivă a greutăţilor pe taler, scripetele va antrena peniţa înscriitoare care, la adăugarea fiecărei greutăţi de câte 5 g, va descrie pe suprafaţa cilindrului kimografului un segment de dreaptă orientat vertical. Pentru o înregistrare corespunzătoare, peniţa înscriitoare va veni în contact cu cilindrul kimografului sub un unghi de aproximativ 15°.

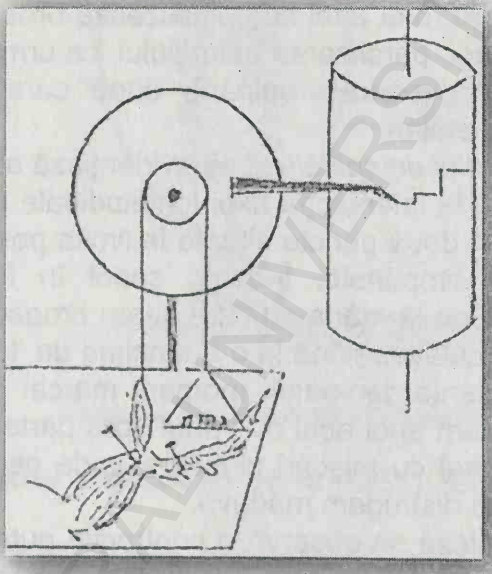


Figura 3. Înregistrarea extensibilităţii şi elasticităţii muşchiului striat muşchiului gastrocnemian de broască

După adăugarea primei greutăţi şi înscrierea primului segment vertical vom roti cilindrul cu mâna, descriind pe grafic un segment orizontal lung de aproximativ 1 cm. Acest segment va fi paralel cu linia zero, trasată la începutul experimentului.

Se va adăuga apoi cu penseta o a doua greutate de 5 g pe taler, având grijă să nu producem şocuri şi se va observa alungirea (extensia) şi mai mult a muşchiului şi înscrierea pe kimogramă a celui de al doilea segment vertical. În continuare, mişcăm din nou cilindrul cu mâna 1 cm, repetând operaţiune a de 4-5 ori.

După înscrierea ultimului segment orizontal se procedează la ridicarea pe rând a greutăţilor de pe taler, alternând fiecare ridicare

cu o rotire cu 1 cm a cilindrului. Concomitent, se va observa modul de revenire a muşchiului (Figura 4).

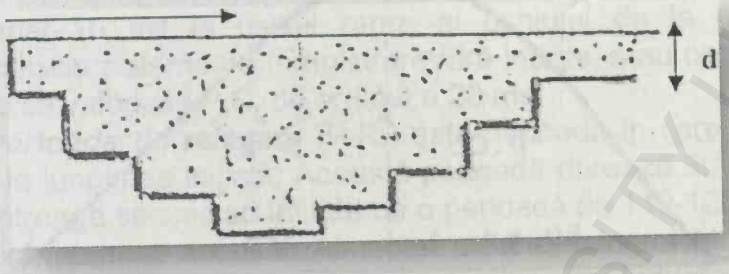


Figura 4. Extensibilitatea şi elasticitatea gastrocnemianului de broasă *in vitro* (d = distanţa)

După ridicarea ultimei greutăţi se va observa că muşchiul nu mai revine exact la lungimea de plecare, ceea ce semnifică faptul că, în condiţii de deformare in vitro, energia consumată la întindere nu se mai recuperează în întregime în faza de revenire.

Întrebări de control: Ce structuri ale mușchiului participă în timpul întinderii și revenirii mușchiului? De ce greutățile care se pun succesiv pe platan trebuie să fie egale?

1.5. Înregistrarea şi analiza secusei muşchiului gastrocnemian

*Secusa*reprezintă cea mai simplă formă de activitate musculară, adică contracţia unică sau elementară, provocată în condiţii experimentale prin excitarea muşchiului cu un singur stimul. Secusele sunt extrem de rare în condiţiile obişnuite de activitate a organismului (clipitul, contracţiile frisonale), muşchii scheletici contractându-se de obicei sub formă tetanică (tonică).

În condiţii experimentale se pot produce secuse prin aplicarea unui stimul electric, fie direct pe muşchiul gastrocnemian de broască, fie prin intermediul nervului sciatic care-l deserveşte. Curba rezultată are forma unui clopot asimetric, iar pe traseul ei se disting trei perioade, şi anume (Figura 5.):

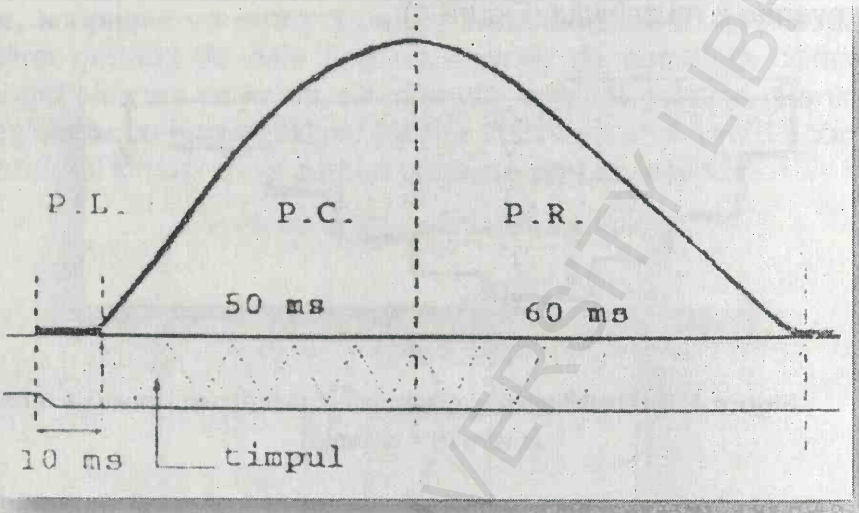


Figura 5. Secusagastrocnemianului de broască: P.L. perioada de latenţă, P.C. perioada de contracţie, P.R. perioada de relaxare

Perioada de latenţă (P.L.), care este perioada de timp din momentul aplicării excitantului şi apariţia contracţiei. Această perioadă are 10 ms la gastrocnemianul de broască şi doar de 1ms la muşchii mamiferelor şi de 2 ms la muşchii scheletici ai omului. Această perioadă mai variază şi în funcţie de starea funcţională a muşchiului. Toţi factorii care favorizează procesele metabolice, cum ar fi temperatura între anumite limite, scurtează P.L., în timp ce oboseala, frigul cresc această durată.

Determinismul P.L. are la bază atât factori fiziologici, cât şi factori fizico-mecanici, legaţi de inerţia sistemelor de înregistrare. În plan fiziologic, apariţia P.L. este motivată de timpul necesar invadării procesului de excitaţie în profunzimea fibrelor musculare şi apariţiei potenţialului de acţiune (P.A.) care se produce chiar la începutul P.L., precum şi de timpul în care se produc unele modificări la nivelul sistemului contractil, care preced contracţia propriu-zisă şi care se exteriorizează prin relaxarea uşoară a muşchiului şi producerea de căldură. Muşchii rapizi (palizi) au P.L. mai mică decât cei lenţi (roşii).

Perioada de contracţie (P.C.) este perioada dintre începerea traseului ascendent şi punctul maxim al deflexiunii. Durata acestei perioade este de 50 ms la gastrocnemianul de broască şi de numai 10 ms la uşchii rapizi ai ochiului de la mamifere. Folosindu-se sisteme de înregistrare fără inerţie, s-au obţinut şi de la broască valori ale P.C. de ordinul a 20 ms.

Perioada de relaxare (P.R.) este perioada în care muşchiul revine la lungimea iniţială. Această perioadă durează 60 ms astfel încât întreaga secusă se întinde pe o perioadă de 110-120 ms.

Echipament necesar: kimograf electric, miograf Marey,sursa de curent, întrerupător cu mercur, bobina de inducţie, semnal electromagnetic Deprez, diapazon electric, trusă de disecţie, broască, soluţie fiziologică, fir de conexiune.

Modul de lucru: se aranjează instalaţia ca în Figura 6. În circuitul de stimulare, excitatorul se leagă în serie cu bobina secundară, iar în circuitul de alimentare se înseriază primarul bobinei de inducţie, sursa de curent, semnalul electromagnetic şi întrerupătorul manual.

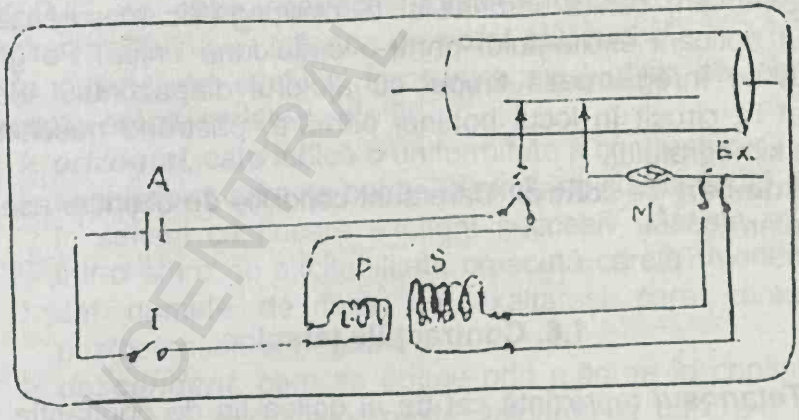


Figura 6. Schema de instalare a circuitului pentru înregistrarea secusei

Se poziţionează muşchiul gastrocnemian perpendicular pe axul peniţei miografului, de care se leagă cu capătul distal, iar capătul proximal se imobilizează cu ace pe pluta miografului. Se desco-

peră nervul sciatic prin despicarea cu o baghetă cu vârf rotunjit a maselor musculare din zona coapsei. Se aşează nevul pe excitator evitându-se atât tensionarea prea puternică a acestui nerv, cât şi contactul simultan între nerv, excitator şi muşchiul adiacent.

Prin apropierea secundarului bobinei de inducţie de primar se alege un curent de o intensitate submaximală, adică un curent care produce contracţie la deschiderea circuitului, nu şi la închiderea lui. Peniţa semnalului electromagnetic se aşează pe aceeaşi linie cu peniţa miografului şi se porneşte kimograful cu viteză mare, adică 0,5-1 m/s. Se închide şi imediat se deschide circuitul cu ajutorul întrerupătorului manual observând comportarea muşchiului. Dacă intensitatea curentului a fost bine aleasă nu se produce contracţie decât la deschidere.

Bobina secundară induce un curent cu valoare de excitant numai la variaţia câmpului electromagnetic din bobina primară, adică la închiderea şi deschiderea circuitului. În felul acesta s-a aplicat preparatului un excitant singular, în măsură să producă o contracţie, adică scurtarea muşchiului, care trage după el peniţa miografului, înscriind secusa.

Simultan, peniţa semnalului electromagnetic marchează momentul aplicării excitantului printr-o deflexiune unică. Pe graficul obţinut se înregistrează timpul cu ajutorul diapazonului electric, montat în circuit în locul bobinei primare, păstrând neschimbată viteza kimografului.

Întrebări de control: Care sunt condițiile de obținere asecusei musculare?

1.6. Contracţiile tetanice

Tetanosul reprezintă cel de al doilea tip de contracţie, care se produce în condiţiile aplicării excitanţilor succesivi. Contracţiile muşchilor în organism au loc sub influenţa impulsurilor ritmice care pleacă de la nivelul sistemului nervos central (SNC). Aceste impulsuri succesive, plecate de la motoneuronii măduvei spinării spre muşchi, au între ele un inteval de timp mai mic decât durata unei secuse. Ca urmare, la nivelul muşchiului are loc un fenomen de

sumare a contracţiilor, care se exteriorizează printr-o contracţie puternică şi de lungă durată – **contracţia tetanică.**

Excitarea muşchiului cu impulsuri ritmice va determina un răspuns al cărui caracter va depinde de frecvenţa excitanţilor (Figura 7):

- dacă intervalul dintre doi excitanţi succesivi este mai mare decât durata secusei, adică frecvenţa este de 5-6 Hz, muşchiul va răspunde tot prin atâtea secuse;
- dacă intervalul este mai mic decât durata unei secuse, adică frecvenţa excitanţilor creşte (10-40 Hz), fiecare excitant succesiv își va însuma efectul cu cel al excitantului precedent, fiindcă acesta din urmă nu va avea timpul necesar descrierii în întregime a secusei. În acest caz se disting două situaţii, şi anume:

a) dacă excitantul succesiv cade în perioada de relaxare a secusei, deci intervalul între doi excitanţi succesivi este mai mare decât P.L. şi P.C., se obţin contracţii incomplet fuzionate, alcătuind un ***tetanos incomplet sau zimţat.***

b) dacă excitantul succesiv cade în perioada de contracţie a secusei, deci intervalul dintre doi excitanţi succesivi este mai mare decât P.L., se obţin contracţii complet fuzionate, prelungite şi puternice, alcătuind un ***tetanos complet sau neted.***

În funcţie de evoluţia frecvenţei excitanţilor pe parcursul tetanosului neted, acesta poate fi:

- ***orizontal***, care indică o uniformitate a contracţiilor;
- ***ascendent***, care se obţine la excitanţi cu frecvenţă optimă, în sensul că fiecare excitant succesiv găseşte muşchiul într-o stare de excitabilitate crescută căreia Vvedenski i-a dat numele de faza de exaltareşi care corespunde *postpotenţialului negativ*;
- ***descendent***, care se obţine prin mărirea în continuare a frecvenţei excitanţilor peste valoarea la care s-a produs platoul ascendent (de ex. 100 Hz). Peste această frecvenţă amplitudinea tetanosului scade progresiv, până la dispariţia completă. Acestea sunt *frecvenţele pessimale,* când fiecare excitant succesiv găseşte muşchiul într-o stare de excitabilitate scăzută, caracteristică perioadei refractare absolute sau relative. Un platou descendent se obţine şi prin obosirea experimentală a muşchiului.

Frecvenţa cea mai mică a excitanţilor la care tetanosul incomplet se transformă în tetanos complet se numeşte ***frecvenţă critică***. Valoarea acestei frecvenţe nu este mereu aceeaşi, temperaturile scăzute, oboseala şi alţi factori reducând frecvenţa critică, prin prelungirea duratei fiecărei contracţii elementare a muşchiului.

O caracteristică a contracţiilor tetanice este aceea că la aceeaşi stare funcţională a muşchiului şi aceeaşi intensitate a excitantului, acestea au o amplitudine mai mare decât cea a secusei. Fenomenul se datoreşte ***însumării efectelor mecanice***, care duce la creşterea forţei.

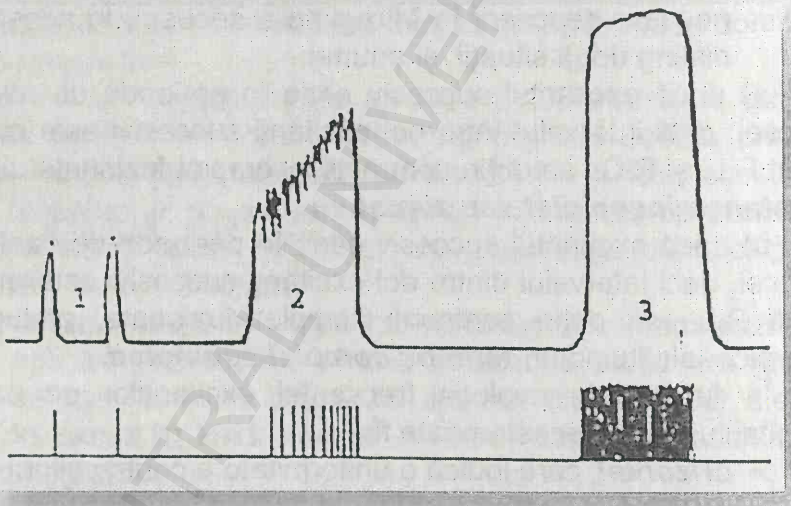


Figura 7. Tipuri de contracţii musculare:
1. secusa; 2. tetanos incomplet; 3. tetanos complet

O altă caracteristică constă în aceea că în timpul tetanosului se însumează numai forţa, adică efectele mecanice, nu şi cele bioelectrice. O înregistrare simultană a efectelor mecanice cu frecvenţa excitanţilor şi cu efectele lor bioelectrice dovedeşte că fiecărui excitant aplicat îi corespunde un potenţial de acţiune separat, atâta timp cât frecvenţa excitanţilor nu depăşeşte labilitatea funcţională a preparatului, adică excitantul succesiv nu cade pe parcursul perioadei refractare absolute. Muşchii scheletici, spre deosebire de

miocard, au o durată redusă a perioadei refractare absolute şi relative, ceea ce face posibilă apariţia contracţiilor tetanice.

Material necesar: similar celui menţionat în cazul secusei.

Mod de lucru: Se lucrează cu preparatul sciatic gastrocnemian de broască, aranjat ca în cazul secusei. Se alege un curent care produce contracţii maximale numai la deschidere. Se reglează viteza kimografului la o valoare redusă (4 mm/s) adică la treapta 7 de pe panoul cutiei de viteză. Se porneşte kimograful şi prin manevrarea întrerupătorului manual cu frecvenţă foarte mică se înscriu 2-3 secuse. În continuare, mărind frecvenţa excitanţilor aplicaţi cu întrerupătorul manual până la 5-6 Hz, obţinem tetanosul incomplet. Imediat după aceea, lăsând circuitul închis, se trece la deblocarea lamelei vibratile a întrerupătorului electromagnetic Wagner, pentru a obţine o frecvenţă de 10-12 Hz şi un tetanos complet pentru circa 5 secunde, după care se deschide circuitul de la întrerupătorul manual, cât mai repede posibil pentru a evita încălzirea bobinelor semnalului electromagnetic.

Întrebări de control: De ce amplitudinea contracțiilor tetanice depășește amplitudinea contracțiilor unice maximale? Dacă în faza de platou a contracțiilor tetanice mărim și mai mult frecvența excitaților se observă o mărire a amplitudinii contracției?

1.7. Volumul muşchiului contractat

In vitro, muşchiul contractat îşi păstrează neschimbat volumul faţă de cel din faza de relaxare. De fapt, se produce o reducere insesizabilă de volum de 1/1000, ca urmare a consumului de substanţe energetice şi degajării de căldură, ca procese caracteristice contracţiei. Pentru că această variaţie a volumului este atât de neînsemnată, putem afirma că, în mod practic, volumul muşchiului scheletic nu se modifică în timpul contracţiei.

In vivo, muşchiul îşi măreşte uşor volumul în timpul travaliului contractil, ca urmare a vasodilataţiei locale, caracteristică activităţilor intense. Nici în acest caz nu se dilată ţesutul contractil, ci vasele care irigă muşchiul.

Material necesar: dispozitiv pentru demonstrarea invariabilităţii volumului muşchiului contractat, bobină de inducţie, întrerupător,

fire de conexiune, acumulator, trusă de disecţie, broască, soluţie Ringer.

Mod de lucru: se pregăteşte preparatul sciatic-gastrocnemian, cu menţinerea intactă a tendonului lui Achile şi secţionarea nervului sciatic cât mai aproape de punctul de emergenţă din canalul neural. Se secţionează membrul deasupra articulaţiei tibio-femurale, piesa rezultată fixându-se de stiletul sau cârligul dispozitivului la nivelul articulaţiei şi cu nervul aşezat pe braţele excitatorului.

Dispozitivul pentru demonstrarea invariabilităţii volumului muşchiului contractat este alcătuit dintr-un borcan de sticlă transparentă, astupat în partea sa superioară cu un dop de cauciuc, prin care trec braţele unui excitator, un tub de sticlă gradat şi un stilet sau cârlig metalic, pentru fixarea preparatului (Figura 8).

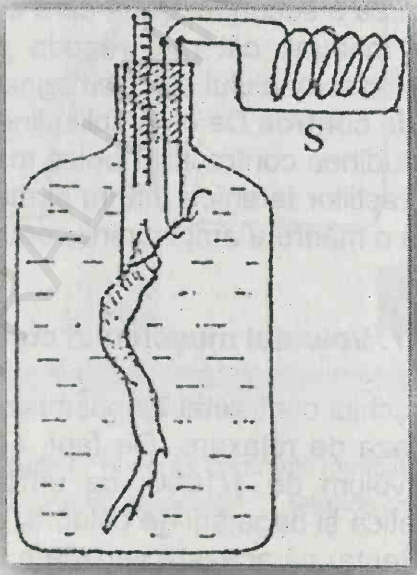


Figura 8. Aranjarea preparatului neuromuscular pentru demonstrarea volumului muscular în timpul contracției. S = sursă de curent.

Întrebări de control: Ce parametri externi se modifică în timpul contracției unui mușchi *in vitro*?

1.8. Contracția mușchilor netezi

În organismul animalelor superioare și al omului musculatura netedă alcătuiește stratul median al pereților unor organe cavitare interne, intră în alcătuirea pereților vasculari, canalelor secretoare ale glandelor exocrine etc. Mușchii netezi prezintă proprietăți diferite comparativ cu mușchii striați sau cardiaci, fiind responsabili de activitățile lente și de durată ale organelor interne. O particularitate importantă a mușchilor netezi constă în capacitatea lor de a intra în contracții tonice de lungă durată fără consum intens de ATP, având un caracter ritmic (de exemplu mușchii tubului digestiv). Contracțiile tonice și ritmice pot fi simultane sau separate, nefiind condiționate reciproc. Ritmicitatea este determinată de prezența unor fibre netede în masa musculară care sunt autoexcitabile: membranele lor sunt foarte permeabile pentru Na^+, ceea ce permite generarea spontană a potențialului de acțiune.

Excitabilitatea musculaturii netede este inferioară celei striate sau cardiace. Pragurile de excitare sunt mai mari, perioada de latență este mai mare (0,25-3 secunde), iar perioada de contracție poate fi cuprinsă în intervalul de la câteva secunde până la 1-2 minute (Figura 9). Se constată astfel o încetinire a procesului de activare, precum și inactivarea procesului de contracție, ambele fiind determinate de particularitățile structurale ale mușchilor netezi (nu prezintă sistemul de tuburi T și un reticul sarcoplasmic intern bine dezvoltat necesar eliberării și reabsorbției ionilor de calciu. Ionii de calciu necesari pentru activarea contracției trec din mediul extern prin membrana celulei sau sunt eliberați în interiorul celulei din structuri care sunt sensibile direct potențialului de acțiune).

Activitatea contractilă lentă a musculaturii netede este îmbinată cu o forță puternică și capacitate de a se opune forțelor de tracțiune prin contracții active sau mărirea tonusului. De asemenea, mușchii netezi reacționează nu numai la influențe nervoase, ci și la cele umorale.

Având o perioadă refractară lungă, pentru a obține contracții tetanice este suficient un număr redus de excitanți aplicați la intervale de timp mari.

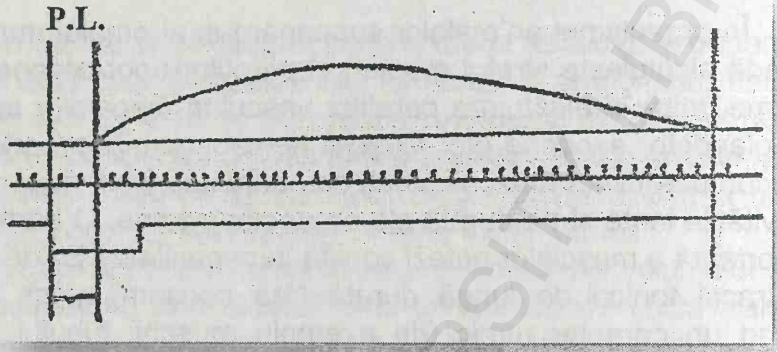


Figura 9. Miograma mușchiului neted. P.L. – perioada de latență

Echipament necesar: kimograf, miograf, semnal electromagnetic, întrerupător, sursă de curent, trusa de disecție, cronograf, soluție fiziologică, stomac de broască.

Mod de lucru: se aranjează aparatele ca în Figura 10. Având în vedere excitabilitatea redusă a mușchilor netezi se va folosi o intensitate mai mare a curentului electric care să acționeze asupra țesutului un timp relativ mai mare motiv pentru care se preferă a se lua de la sursa de curent și nu de la bobina de inducție.

Se paralizează broasca, se descoperă cavitatea abdominală și se secționează un inel de stomac lat de 5-6 mm. Se secționează inelul în lung și paralel cu pliurile mucoasei și se introduc două bolduri la extremitățile preparatului. Boldurile vor juca rolul de excitator și servesc la întinderea preparatului de penița miografului.

Se așează preparatul pe pluta miografului deasupra unui tampon de vată îmbibat în soluție fiziologică și se racordează la penița miografului.

Se așează penița miografului și a semnalului electromagnetic pe aceeași linie de plecare, se răsucește manual cilindrul kimografului după care se pornește kimograful cu viteză redusă (10-15 cm/minut). Se închide circuitul și se înregistrează o contracție unică (Figura 10).

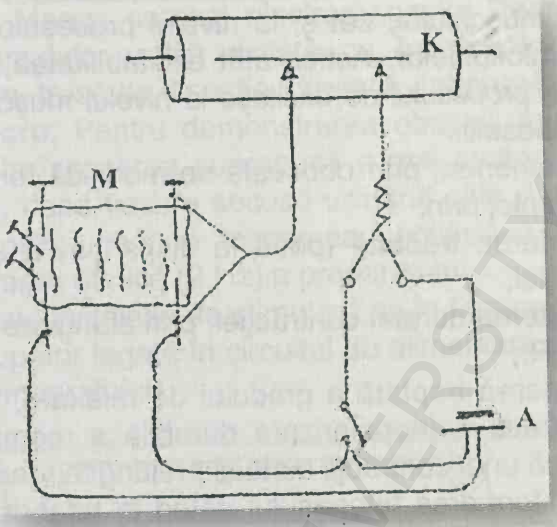


Figura 10. Instalația pentru înregistrarea miogramei mușchilor netezi

Pentru a înregistra o contracție tetanică se va excita repetat preparatul la intervale mai mari de timp. Între traseul miografului și a semnalului electromagnetic se înscrie timpul cu ajutorul cronografului.

Întrebări de control: Ce inervație prezintă musculatura netedă și care sunt deosebirile funcționale comparativ cu musculatura striată?

1.9. Oboseala musculară

Suprasolicitarea aceloraşi muşchi, ca urmare a contracţiilor repetate, duce la apariţia fenomenului de ***oboseală musculară***. Diminuarea progresivă a activităţii musculare în condiţii de oboseală are loc pe multiple planuri:

- energetic (reducerea randamentului contracţiei);
- mecanic (scăderea forţei maximale a contracţiei);
- electric (scăderea amplitudinii electromiogramei);
- nervos (încetinirea difuziei contracţiei la alte grupe musculare şi a preciziei mişcării).

BCU "IOAN CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În timpul oboselii au loc modificări, atât la nivelul sistemului excitabil al muşchiului, cât şi la nivelul proceselor energetice ale contracţiei miofibrilelor. Astfel, atât excitabilitatea, cât şi viteza de răspândire a procesului de excitaţie la nivelul muşchiului scad după instalarea oboselii.

De asemenea, prin oboseală se modifică forma secusei şi a platoului tetanic, prin:

- scăderea treptată (până la dispariţie) a amplitudinii contracţiei;
- creşterea duratei contracţiei, prin alungirea P.C. şi mai ales a P.R.;
- scăderea treptată a gradului de relaxare, până la apariţia contracturii (depolarizare durabilă a membranei, caracteristică unei contracţii lente şi prelungite, dar reversibilă);
- transformarea tetanosului neted în tetanos zimţat, în special în cazul excitanţilor repetitivi slabi.

Mecanismele prin care se produce oboseala musculară vizează, înspecial:

- acumularea produşilor de catabolism, în special acidul lactic;
- epuizarea materialului energetic (glucoza, ATP etc.);
- deficitul de oxigen.

În contracţiile voluntare, se pare că oboseşte mai întâi celula nervoasă, apoi sinapsa neuromusculară şi în final sistemul contracţii, axonul (nervul) fiind practic infatigabil. În general, instalarea oboselii survine mai repede sau mai lent, în funcţie de intensitatea activităţii musculare şi de irigarea cu sânge a muşchiului.

Remediul împotriva oboselii este odihna sau repausul, iar modul în care se face odihna este foarte important. **Secenov** recomandă metoda repausului activ, care presupune odihna unor grupe musculare obosite, concomitent cu executarea unui travaliu moderat cu celelalte grupe musculare. În felul acesta creşte randamentul procesului de odihnire.Explicaţia constă în inervaţia reciprocă a muşchilor antagonişti. Activarea motoneuronilor altor grupe de muşchi inhibă motoneuronii muşchilor care se odihnesc (*inhibiţia recurentă*). ***Inhibiţia*** este tot un proces nervos activ (ca şi excitaţia), în timpul căreia se intensifică refacerea potenţialului de lucru al celulei nervoase mult mai mult decât în timpul repausului obişnuit (***fenomenul Secenov***).

Echipament necesar: kimograf mecanic special (cu rotiţă dinţată), miograf Marey, semnal electromagnetic Deprez, bobină de inducţie, acumulator, rotiţă dinţată cu întrerupător, diapazon electric, metronom, trusă de disecţie, broască, întrerupător manual.

Mod de lucru: Pentru demonstrarea oboselii musculare se procedează, fie la înscrierea suprapusă a mai multor secuse ale aceluiaşi muşchi, după fiecare secusă urmând câte o salvă de 50 contracţii de obosire, fie prin înscrierea continuă a contracţiilor produse de excitarea ritmică (2 Hz) a preparatului.

Se pregăteşte instalaţia de stimulare ca în Figura 11, cu rotiţa dinţată cu întrerupător legată în circuitul de alimentare şi cuplată la rotiţa dinţată a kimografului.

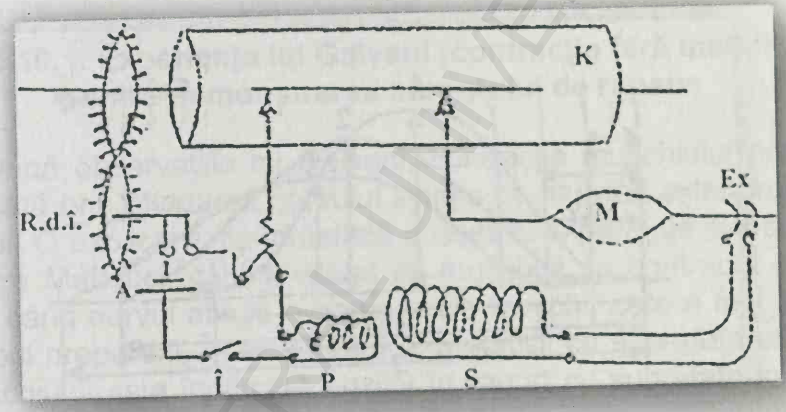


Figura 11. Schema instalaţiei pentru înregistrarea oboselii musculare
R.d.î. = rotiţă dinţată cu întrerupător; M = muşchi; Ex = excitator; K = kimograf.

Cele două rotiţe au acelaşi număr de dinţi, iar scopul utilizării lor este de a închide succesiv circuitul electric, deci de a stimula în mod repetat muşchiul când peniţele ajung în aceleaşi loc pe cilindrul kimografului, astfel încât, secusele suprapuse, înscrise succesiv, vor avea acelaşi punct de plecare. Se fixează preparatul sciatic-gastrocnemian pe pluta miografului şi se aranjează peniţele pe aceeaşi linie de start. Se porneşte kimograful cu viteză mare, pentru a înscrie secusele desfăşurat. Se aduce întrerupătorul manual pe poziţia „închis", însă prima secusă se va înscrie numai la comanda rotiţei dinţate cu întrerupător, care o va amplasa exact

după linia de start. În continuare, menţinem nederanjate rotiţele, pentru a nu se schimba poziţia dinţilor şi se îndepărtează doar peniţele de pe kimograf, pentru a nu se înscrie următoarele 50 de secuse de obosire a muşchiului.

Acestea se produc, fie prin excitarea manuală a muşchiului cu o frecvenţă de 2 Hz (cu întrerupătorul manual pe poziţia „închis"se acţionează cu degetul lamela rotiţei dinţate cu întrerupător), fie prin conectarea unui metronom electric în circuitul bobinei primare.

După 50 de contracţii se apropie din nou peniţele de kimograf şi se trasează o a doua secusă (Figura 12), suprapusă peste prima, după care se procedează identic şi pentru cea de a treia (Hefco, 1976).

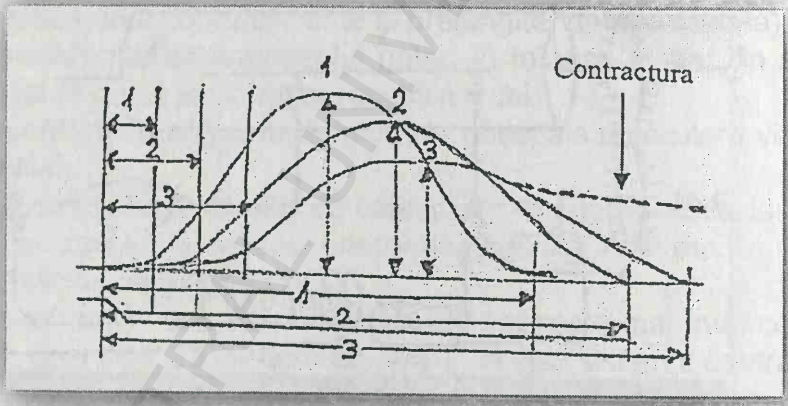


Figura 12. Modificările secusei în urma instalării oboselii

Se înscrie timpul sub cele trei curbe, după care se face analiza amplitudinilor şi a perioadelor de desfăşurare pentru fiecare dintre cele treisecuse, evidenţiindu-se clar efectele oboselii muşchiului scheletic.

La muşchiul obosit, secusele au amplitudine din ce în ce mai mică, iar durata acestora este din ce în ce mai mare, la ultima din ele făcându-şi apariţia contractura.

Întrebări de control: Care sunt cauzele apariţiei oboselii musculare? Care sunt mijloacele de luptă împotriva oboselii musculare? Care este ordinea de instalare a oboselii în organism?

1.10. Metoda biologică pentru demonstrarea fenomenelor bioelectrice în țesuturile excitabile

Fenomenele bioelectrice din țesuturile excitabile pot fi evidențiate atât prin metode biologice, cât şi cu ajutorul instrumentelor de măsură fizice. Cu toate că metoda biologică şi-a pierdut în prezent importanţa sa ca metodă de cercetare, pentru fiziologi ea va reprezenta un permanent interes datorită rolului excepţional pe care l-a avut în istoria descoperirii fenomenelor bioelectrice. Această metodă a permis lui Galvani (1794) de a demonstra incontestabil existenţa electricităţii animale şi în acelaşi timp de a pune bazele unei noi direcţii în fiziologie – studiul proceselor electrice în organism.

1.10.1. Experienţa lui Galvani (contracţia fără metal) pentru demonstrarea curentului de repaus

După observaţiile lui Galvani, contracţia muşchiului poate fi provocată prin atingerea nervului sciatic de muşchii exteriorizaţi ai gambei. O explicare mai detaliată a acestei experienţe a fost dată de către Matteuci, care a arătat că muşchiul se contractă numai atunci când nervul atinge o porțiune de muşchi, care a fost lezată în timpul preparării. În continuare el a stabilit că suprafața externă a muşchiului este încărcată pozitiv în raport cu suprafaţa internă. Această diferenţă de potenţial există în condiţii de repaus – *potenţial de repaus* – şi se manifestă evident când muşchiul este lezat. Din această cauză, potenţialul care apare între segmentul lezat şi cel intact a primit denumire de *potențial de leziune, potențial de demarcație*. În prezent se utilizează denumirea de ***potenţial de repaus***. Când nervul atinge zona electronegativă a muşchiului lezat are loc închiderea circuitului electric în care rolul polului pozitiv este jucat de suprafaţa intactă a muşchiului şi a porţiunii de nervce vine în contact cu el. Deci, din cauza excitării nervului în condiţiile descrise, va fi acțiunea excitantă a curentului, care apare nemijlocit în țesuturi.

Echipament necesar: trusă de disecţie, baghetă de sticlă cu vârf bont sau curbat, soluţie fiziologică, broască.

Mod de lucru: se pregăteşte o labă galvanoscopică în felul următor: după paralizarea broaştei, se înlătură cu atenţie tegumen-

tul de pe membrul posterior, se degajă nervul sciatic de la articulaţia genunchiului şi până la nivelul măduvei unde îl secţionăm. Secţionăm deasupra genunchiului restul membrului posterior, având grijă să păstrăm intactă legătura nervului sciatic cu muşchiul gastrocnemian. În Figura 13 femurul a fost păstrat, contribuind la manipularea labei galvanoscopice. Aşezăm preparatul pe o lamă de sticlă. Secţionăm transversal muşchii coapsei (sau alţi muşchi) şi cu ajutorul unei baghete de sticlă facem ca nervul sciatic al labei galvanoscopice să vină în contact pe de o parte cu suprafaţa intactă a muşchiului, iar de pe de altă parte să atingă suprafaţa lezată. În aceste condiţii experimentale ori de câte ori nervul atinge suprafaţa lezată, muşchiul se contractă.

Acest muşchi se comportă ca un galvanoscop din care cauză experienţa este cunoscută şi sub denumirea de *labă galvanoscopică*.

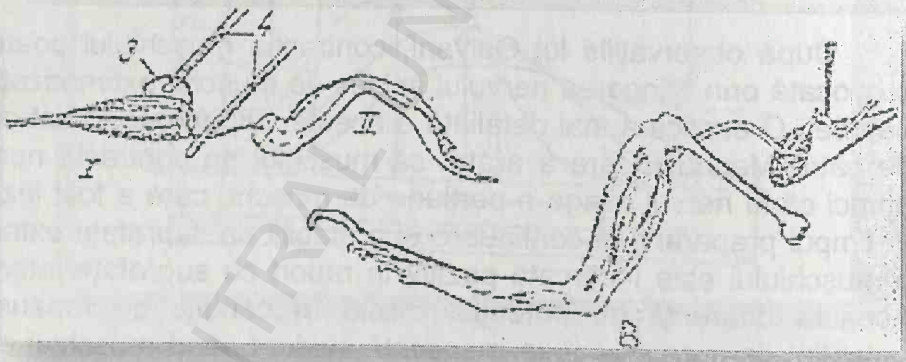


Figura 13. Experienţa lui Galvani

1.10.2. Experienţa lui C. Matteucii (tetanos secundar) pentru demonstrarea curentului de acţiune

În 1840 Matteucii a arătat că putem determina contracţia muşchiului labei galvanoscopice, aplicând nervul său motor pe alt muşchi aflat în contracţie. Experienţa ne demonstrează că, la muşchiul în contracţie (acţiune), apar curenţi care au valoare cel puţin de prag, putând servi ca excitanţi pentru nervul unui alt preparat. Aceşti curenţi au primit denumirea de *curenţi de acţiune*.

Echipament necesar:excitator, bobină de inducţie, sursă de curent, întrerupător, trusă de disecţie, broască.

Mod de lucru:se pregătesc două labe galvanoscopice. Se aplică nervul sciatic al unei labe, pe electrozi de excitare, iar nervul celei de a doua labe – face contact în două puncte cu gastrocnemianul primei labe (Figura 14). Determinând o contracţie tetanică a unui muşchi, prin excitări ritmice a nervului sciatic respectiv, de observat contracţia celui de al doilea muşchi.

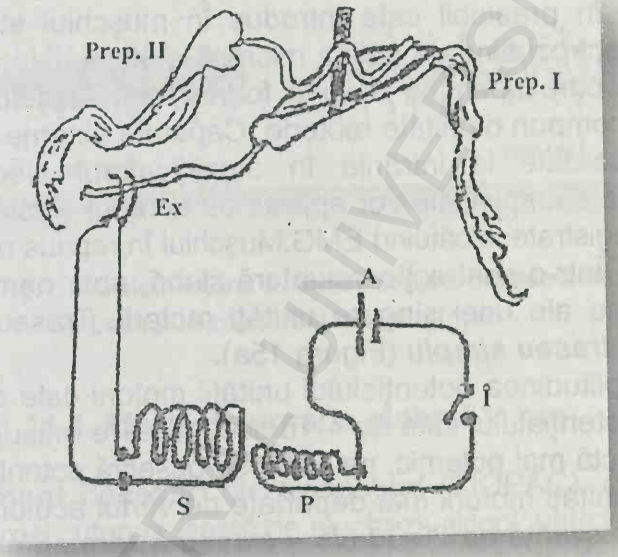


Figura 14. Evidenţierea potenţialului de acţiune cu ajutorul a două labe galvanoscopice

1.11. Electromiografia

Electromiografia reprezintă totalitatea procedeelor de studiu al activității electrice a mușchiului în cursul contracției reflexe sau voluntare la om și animale. Electromiografia se practică obișnuit în cursul contracției izometrice, dar poate fi folosită și contracția izotonică. Înregistrarea grafică a activității electrice a mușchiului se numește *electromiogramă* (EMG).

Derivarea potențialelor se poate face cu electrozi de suprafață (*electromiograma globală*) sau cu electrozi implantați în mușchi (*electromiograna elementară*).

Electromiografia elementară înregistrează biopotenţialele de acţiune ale unităţilor motoare. Înregistrarea se face cu ajutorul electrozilor coaxiali bipolari ale lui Adrian şi Bronk (1929) (un ac de seringă prin lumenul căruia trec până la vârf două sârme foarte fine izolate cu lac între ele. Vârfurile firelor sunt dezizolate. Peretele acului serveşte la fixarea electrozilor şi la ecranarea lor). Electrodul sterilizat în prealabil este introdus în muşchiul studiat. Distanţa dintre electrozi fiind de câţiva microni, aceştia culeg diferenţele de potenţial care apar într-o zonă foarte redusă, adică în grupe de fibre ce compun o unitate motorie. Capetele externe ale electrozilor sunt racordate la intrările în amplificatorul electromiografului. Potenţialele amplificate vor apărea pe ecranul electromiografului şi pot fi înregistrate, alcătuind EMG.Muşchiul în repaus nu are activitate electrică. Într-o contracţie voluntară slabă, apar numai potenţialele de acţiune ale unei singure unităţi motorii. Traseul respectiv se numeşte ***traseu simplu*** (Figura 15a).

Amplitudinea potenţialului unităţii motorii este de 300-500μV. Durata potenţialului este de 4-16 secunde. Pe măsură ce muşchiul se contractă mai puternic, pe EMG se observă potenţiale de acţiune şi de la unităţi motorii mai depărtate de vârful acului. Apar descărcări cu frecvenţă de 20-30 c/s – ***traseu intermediar*** (Figura 15b), iar contracţia maximă produce descărcări de frecvenţă de 20-50 c/s – ***traseu de interferenţă*** (Figura 15c).

Electromiografia globală reprezintă activitatea electrică globală a unei contracţii reflexe sau voluntare, derivată cu ajutorul a doi electrozi cutanaţi situaţi deasupra muşchiului în contracţie. În contracţia slabă traseul apare sub formă de variaţii de potenţial de amplitudine redusă şi neregulată. Oscilaţiile devin mai ample şi mai regulate în contracţia de intensitate medie şi maximală, având alura unui ritm pseudosinusoidal (***ritmul lui Piper***) de frecvenţă de 50c/s peste care se suprapun croşete de amplitudine mai redusă având o frecvenţă de 200-500 c/s.

Electromiografia se utilizează în clinică pentru diagnosticarea afecţiunilor neuromusculare. Deseori se înregistrează EMG în urma excitării subtegumentare a nervilor. Aceasta permite diagnos-

ticarea şi diferenţierea afecţiunilor de tipul *fasciculaţiei* (contracţia spontană a fasciculelor musculare), de tipul *fibrilaţiei* (contracţia spontană a fibrelor musculare izolate).

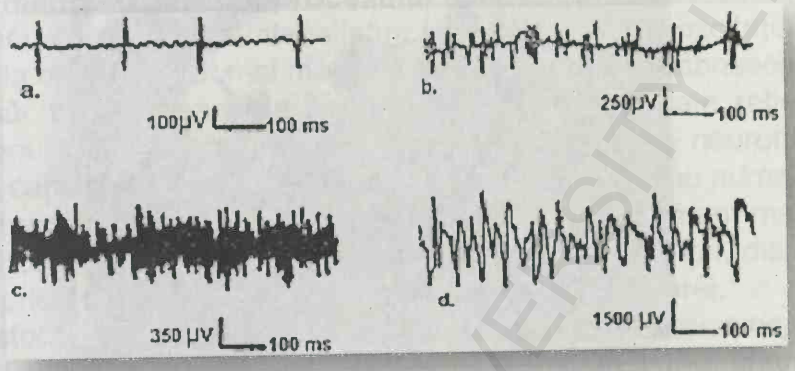


Figura 15. EMG elementară: a. traseu simplu; b. traseu intermediar; c. traseu de interferenţă; d. ritm Piper

1.11.1. Electromiografia globală la om

Echipament necesar: electromiograf (BIOPAC), greutăţi de 1,2,5 kg; electrozi cutanaţi; pastă de electrozi; alcool; vată;leucoplast.

Mod de lucru: pentru înregistrare se foloseşte muşchiul biceps (Figura 16). Se tratează tegumentul deasupra muşchiului cu alcool 96% şi apoi cu o pastă specială pentru a micşora rezistenţa dintre electrozi. Electrozii înveliţi în tifon se îmbibă cu o soluţie salină 20%, se fixează cu leucoplast deasupra muşchiului şi se măsoară rezistenţa dintre electrozi. Subiectul este solicitat să ridice o greutate de 1 sau 3 kg. Se observă pe ecranul osciloscopului descărcări de potenţiale care apar în momentul contracţiei muşchiului.

După 5-10 minute de odihnă se repetă înregistrarea biopotenţialelor în timpul ridicării unei greutăţi mai mari (3 sau 5 kg). S-a observat creşterea amplitudinii şi frecvenţei biopotenţialelor în timpul mişcării.

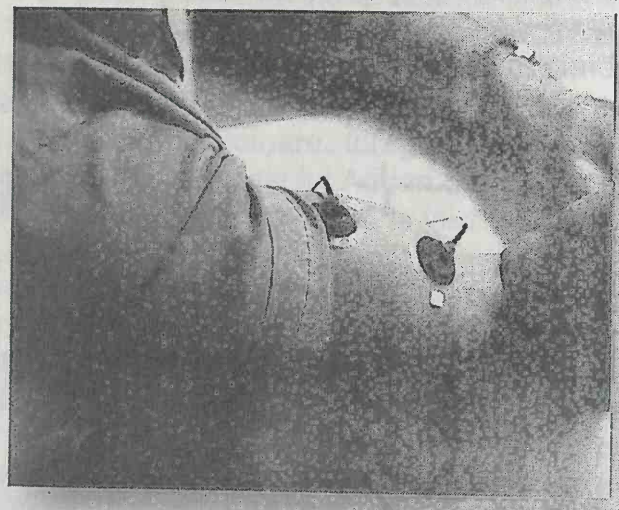


Figura 16. Electromiograma globală la om

1.11.2. Electromiografia elementară la animale

Echipament necesar: electromiograf (BIOPAC), electrozi coaxiali; stimulator; electrozi pentru stimularea nervului; trusă de disecţie; broască.

Mod de lucru:animalul paralizat se fixează pe masa de disecţie. Se izolează nervul sciatic. Se aplică electrozi pe nerv. Se excită nervul cu o frecvenţă de 0,5-1 Hz şi intensitate care să determine o contracţie evidentă. Se introduce electrodul în muşchi şi se înregistrează biopotenţialele.

Întrebări de control: Ce se înțelege prin electromiogramă globală și elementară?

1.12. Legile reflexelor exteroceptive medulare (Legile lui Pflüger)

Între intensitatea stimulului şi amplitudinea reacţiei reflexe există o corelaţie bine definită. Această corelaţie, precum şi modul de organizare complexă a reflexelor medulare exteroceptive sunt

ilustrate de ***legile lui Pflüger.*** Pentru evidenţierea reflexelor medulare se lucrează pe animale decerebrate (spinale).

Pe măsura creşterii treptate a intensităţii stimulului aplicat pe zona receptoare, la nivelul centrului nervos medular se instalează un ***fenomen de iradiere a procesului excitator.***

Deci, cu cât creşte intensitatea stimulării, cu atât excitaţia se extinde la un număr tot mai mare de motoneuroni şi, în consecinţă, un număr tot mai mare de muşchi va intra în activitate reflexă. Fenomenul de ***iradiere*** se realizează prin sinapsarea neuronului aferent, care pătrunde în substanţa cenuşie medulară, nu numai cu motoneuronii de la acelaşi nivel, adică din acelaşi segment medular, ci şi cu un număr mare de neuroni intercalari şi motori, dispuşi atât anterior, cât şi posterior faţă de locul de intrare a fibrei.

Datorită *variabilităţii rezistenţei la nivelul diferitelor sinapse*, impulsul ajuns la nivelul centrului se va propaga într-o anumită ordine la motoneuronii din zonă, deci se va propaga dirijat numai pe anumite căi. Astfel, sinapsele cu motoneuronii cei mai apropiaţi au pragul cel mai coborât şi vor intra primii în acţiune. Pe măsură ce intensitatea stimulului creşte impulsurile se propagă la mare distanţă excitând mai întâi doar motoneuronii segmentelor adiacente şi apoi şi pe cei mai îndepărtaţi.

Material necesar: stativ cu tijă orizontală, cârlig, trusă de disecţie, pahare, acid acetic 1%, 2,5%, 5%, 15% şi acid acetic glacial (96%), hârtie de filtru, broască.

Modul de lucru: se suspendă broasca decapitată (Figura 17) de mandibulă şi după trecerea şocului spinal se excită degetul labei posterioare cu acid acetic 1%, observând o uşoară flectare a degetului, răspunsul fiind însă limitat la un număr redus de muşchi (***legea localizării***).

Imediat după liniştirea animalului se spală degetul şi se reia producerea reflexului cu acid acetic 2%, observându-se flexia membrului (***legea unilateralităţii***). După spălarea degetului şi liniştirea animalului se excită zona receptoare cu acid acetic 5%, observându-se reacţia de flexie a ambelor membre posterioare (***legea simetriei sau bilateralităţii***). După o nouă spălare, se excită degetul cu acid acetic 15%, observându-se intrarea în contracţie şi a muşchilor membrelor anterioare, datorită iradierii excitaţiei la nivelele medulare superioare (***legea iradierii***). După o nouă spălare

se excită degetul cu acid acetic glacial şi se va observa intrarea în contracţie a tuturor muşchilor animalului (***legea generalizării***).

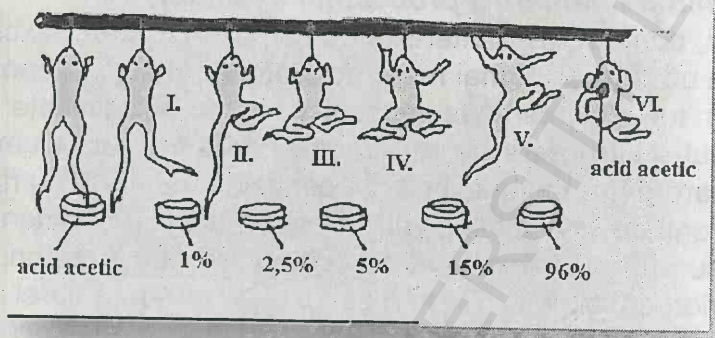


Figura 17. Legile reflexelor exteroceptive medulare:
I. Legea localizării; II. Legea unilateralității; III. Legea simetriei;
IV. Legea iradierii; V. Legea generalizării; VI. Legea coordonării.

Se lasă animalul să se liniştească după care se aplică pe suprafaţa tegumentului din regiunea dorsală a corpului un fragment de hârtie de filtru îmbibată în acid acetic glacial. Animalul reacţionează la excitant, căutând să înlăture fragmentul de hârtie cu ajutorul membrului ipsilateral (de pe aceeaşi parte a corpului). Se spală cu apă locul excitat după care se reia experimentul prin legarea membrului posterior de pe una din părţile corpului. Se aplică excitantul pe acelaşi loc pe partea unde s-a imobilizat membrul posterior. Broasca va folosi iniţial membrul ipsilateral imobilizat, după care va îndepărta fragmentul de hârtie cu membrul contralateral, evidenţiindu-se faptul că reflexele care se închid la nivel medular au un caracter coordonat (***legea coordonării***).

Creşterea gradată a intensităţii excitantului se poate realiza şi cu ajutorul unei bobine de inducţie, aplicând excitatorul pe laba piciorului de la o broască spinală.

1.13. Analiza actului şi arcului reflex

Prin ***act reflex*** se înţelege reacţia de răspuns a organismului la acţiunea unui excitant, realizată cu participarea SNC. Baza anatomică a actului reflex este ***arcul reflex***, care în cea mai simplă formă constă în:

a) ***calea aferentă*** (centripetă) formată dintr-un organ receptor, la nivelul căruia apare potenţialul de receptor şi neuronul senzitiv, care prin prelungirile sale transmite impulsul nervos la SNC. La reflexele medulare, corpurile celulare ale neuronilor aferenţi se află în ganglionii spinali de pe rădăcinile posterioare ale nervilor rahidieni;

b) ***calea eferentă*** (centrifugă) constituită din axonul neuronului motor sau secretor, care conduce impulsurile de la SNC la efector (muşchi, glandă). În cazul arcurilor reflexe spinale somatomotoare, axonii neuronilor eferenţi părăsesc măduva prin rădăcinile anterioare. Corpul lor celular se află în coarnele anterioare (motoneuronii alfa şi gama);

c) ***centru nervos*** situat în substanţa cenuşie a SNC, constituit din corpul celular şi dendritele neuronului eferent şi sinapsa cu prelungirea centrală a neuronului aferent.

Arcul reflex poate fi bineuronal (monosinaptic) şi plurineuronal (polisinaptic). Pentru a avea loc un act reflex este necesară integritatea morfofuncţională a arcului reflex.

Mod de lucru: se pregăteşte o broască spinală (secţionarea fălcii superioare la nivelul comisurilor bucale), lăsând intactă numai măduva spinării. Se suspendă broasca pe un stativ, cu ajutorul unui cârlig metalic introdus în mandibulă. Extirparea creierului este urmată de o perioadă de flaciditate musculară (şoc spinal), care la broască poate dura câteva minute (10-15 minute). În perioada şocului spinal nu pot fi provocate acte reflexe. Se pun în capsulă aproximativ 10 ml soluţie acid acetic 5%. Se introduce capsula sub unul dintre membrele posterioare şi se ridică până când vârful celui mai lung deget atinge soluţia. După câteva momente se observă că broasca îşi îndoaie piciorul excitat. Acesta este un act reflex simplu.

1.14. Determinarea timpului reflex după Türk

Timpul reflex sau perioada latentă a reflexului este timpul care se scurge de la aplicarea excitantului pe receptor, până la apariţia actului reflex. Timpul reflex cuprinde;

1. timpul necesar pentru apariţia potenţialului de receptor (generator) la nivelul receptorului, care generează influx nervos (potenţial de acţiune);
2. timpul necesar pentru conducerea influxului pe calea aferentă până la centrul nervos corespunzător;
3. timpul necesar pentru propagarea excitaţiei la nivelul centrului; în mod normal propagarea excitaţiei la nivelul centrului necesită un timp mai îndelungat datorită întârzierii sinaptice.
4. timpul necesar pentru transmiterea excitaţiei pe calea eferentă;
5. timpul necesar pentru realizarea răspunsului din partea efectorului.

În general, timpul necesar propagării impulsurilor în diferite circuite neuronale oferă indicaţii cu privire la numărul total de sinapse din circuitul nervos respectiv.

Este cunoscut faptul că durata timpului reflex depinde de următorii factori:

1. caracterul fibrelor nervoase care deservesc reflexul;
2. intensitatea şi timpul de acţiune al excitantului;
3. mărimea câmpului sau zonei receptoare (suprafaţa reflexogenă).

Mod de lucru: se pregăteşte o broască spinală. Se trece la excitarea unuia din membrele posterioare, prin introducerea părţii terminale a labei într-un pahar cu acid sulfuric 0,1%, şi se cronometrează timpul scurs din momentul aplicării excitantului până la apariţia reflexului de flexie a membrului excitat.

Se spală cu apă preparatul şi după 2-3 minute se repetă determinarea, astfel încât în final se face media a două-trei determinări succesive, obţinute cu acid 0,1% pe acelaşi membru al animalului. Se spală preparatul şi se repetă experimentul şi cu soluţiile de acid sulfuric 0,3 şi 0,5%.

Se vor nota timpii pentru fiecare concentraţie (intensitate a excitantului) şi se va analiza relaţia dintre perioada latentă a reflexuluişi intensitatea excitantului (timpul mediu pentru fiecare concentraţie).

1.15. Reflexele miotatice cu importanţă clinică

Reflexul miotatic sau de întindere este un reflex proprioceptiv, provocat prin întinderea unui muşchi. În modul cel mai simplu poate fi provocat la om prin percuţia tendonului rotulian. Ca urmare se produce o întindere bruscă a fibrelor muşchiului cvadriceps, ceea ce determină contracţia reflexă a acestuia, cu extensia gambei pe coapsă, ca urmare a excitării proprioceptorilor-fusurile neuromusculare. Este un reflex monosinaptic. Arcul reflex este format proprioceptor, un neuron senzitiv situat în ganglionul spinal, o sinapsă, un motoneuron alfa şi un efector (muşchi). Actul este reflex deoarece dispare după secţionarea rădăcinilor anterioare sau posterioare, este deprimat de anestezice şi poate fi inhibat sau facilitat. Reflexul descris este **reflexul rotulian** şi este realizat prin nervul crural anterior (Figura 18).

Figura 18. Reflexul rotulian

Reflexul achilian poate fi provocat prin percutarea tendonului lui Achile, atunci când piciorul este îndoit în unghi drept şi gamba se sprijină pe un suport. Se manifestă prin contracţia muşchilor gemeni şi prin extensia labei piciorului. Nervul periferic este sciaticul (Figura 19).

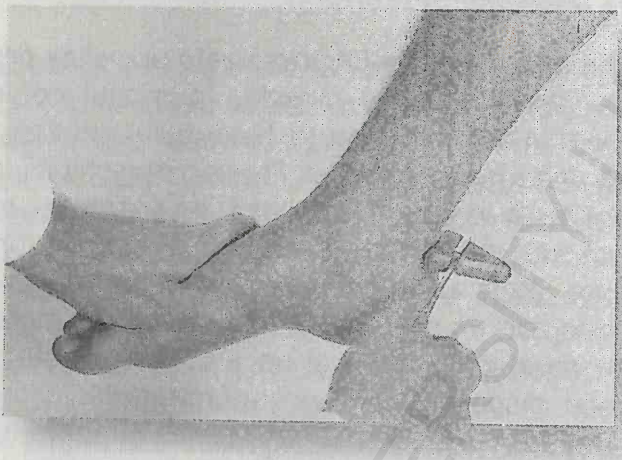


Figura 19. Reflexul achilian

Reflexul plantar este provocat de excitarea prin deplasarea unui vârf de cuţit pe marginea externă a plantei, cu direcţia dinspre călcâi spre degete, sau, mai frecvent,flexia plantară a halucelui. Într-o leziune a căilor cortico-spinale, reflexul normal este înlocuit de flexia dorsală a halucelui şi deseori o răsfirare în evantai a celorlalte 4 degete. Această reacţie este denumită „semnul lui Babinski" (Figura 20).

Figura 20. Reflexul plantar

Reflexul bicipital este provocat de o lovitură pe tendonul tricepsului la plica cotului; răspunsul constă într-o contracţie rapidă

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

a bicepsului cu flectarea cotului. Nervul periferic este musculo-cutanat (Figura 21).

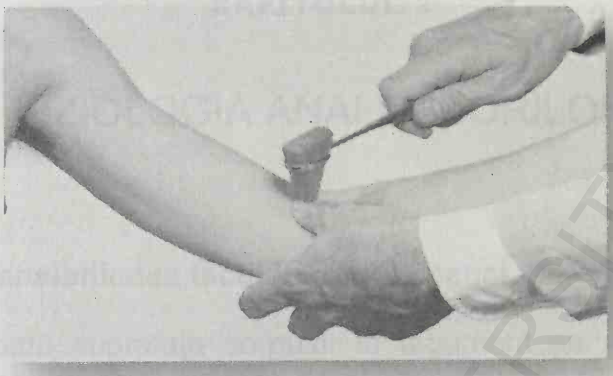


Figura 21. Reflexulbicipital

Reflexul tricipital este provocat de o lovitură pe tendonul tricepsului imediat înainteaolecranului; rezultă contracţia muşchiului şi extensia cotului. Nervul periferic este radialul (Figura 22). Acestea sunt câteva dintre reflexele proprioceptive cu centrul în măduva spinării, având importanţă în autoapărare, menţinerea poziţiei corpului, redresarea rapidă a echilibrului, motiv pentru care se realizează cu un număr minim de neuroni. Studiul lor constituie un test pentru starea generală a organismului şi în particular a aparatului locomotor.

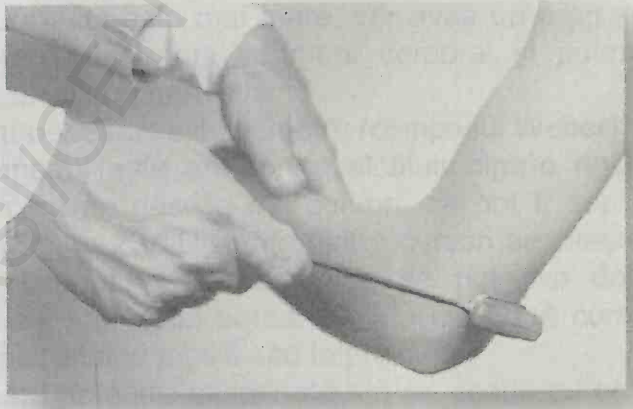


Figura 22. Reflexultricipital

BCU IAŞI "CAROL I" UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CAPITOLUL 2

FIZIOLOGIA ANALIZATORILOR

2.1. Sensibilitatea tactilă. Pragul spaţial. Esteziometria

Pe toată suprafaţa corpului în tegument se află receptori tactili. La om numărul lor este de aproximativ 500.000. Răspândirea lor nu este uniformă, motiv pentru care diferite zone ale suprafeţei tegumentare prezintă o sensibilitate diferită. Numărul cel mai mare de receptori tactili se află pe vârfurile degetelor, pe palmă, vârful limbii şi a nasului, iar cel mai redus pe spate.

Ca o măsură a capacităţii de analiză a analizatorului tactil serveşte ***pragul spaţial simultan al sensibilităţii tactile,*** prin care se înţelege distanţa minimă, la care trebuie să se afle două obiecte (vârfurile esteziometrului), care, acţionând simultan asupra tegumentului, dau naştere la două senzaţii (distingem doi excitanţi tactili). Pentru ca să percepem separatdouăpuncte excitate simultan, trebuie să fie stimulaţi cel puţin doi receptori şi doi neuroni. Se înţelege că suprafeţele corporale, unde numărul de receptori pe unitate de suprafaţă este mai mare, vor avea un prag spaţial mai mic. Între mobilitatea unui segment corporal şi puterea lui de discriminare, există un paralelism.

Material necesar: esteziometru (compasul Weber)

Esteziometrul este un aparat alcătuit dintr-o riglă metalică gradată, pe care se găsesc doi cursori, ce pot fi deplasaţi de-a lungul riglei (Figura 23). Distanţa dintre cursori se citeşte pe riglă. La capetele inferioare ale cursorilor, se pot fixa două vârfuri ascuţite, din os, sau două butoane metalice, după cum dorim să măsurăm sensibilitatea tactilă sau la presiune.

Tehnica: persoana examinată stă pe scaun cu ochii închişi. Vârfurile cursorilor de la esteziometru, care sunt apropiate la maxim, se aplică concomitent (fără apăsare) pe zona tegumentară explorată.

Mărim treptat distanţa dintre cursori (adăugând de fiecare dată câte 1 mm) şi continuăm să atingem zona tegumentară aleasă. Se va nota distanţa minimă dintre cursori, la care examinatul sesizează prima dată 2 excitanţi tactili, aplicaţi simultan pe piele. Distanţa respectivă reprezintă pragul spaţial simultan pentru zona tegumentară dată.

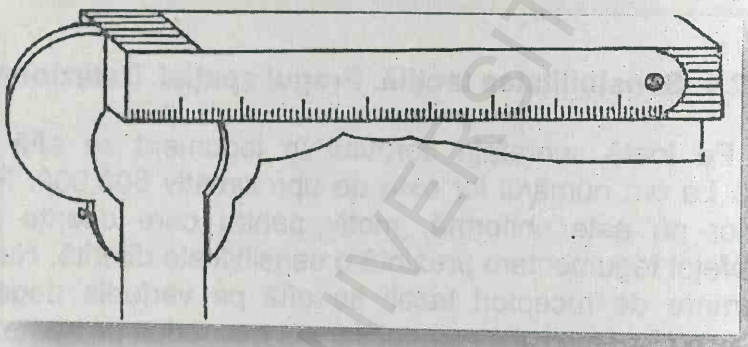


Figura 23. Esteziometrul Weber

Recomandări: se va determina pragul spaţial al sensibilităţii tactile din zona vârfului degetelor, vârful limbii, palma, nas, gât şi spate.

Întrebări de control: Ce semnificaţie biologică prezintă răspândirea neuniformă a receptorilor tactili de pe diferite zone ale tegumentului la om?

2.2. Experienţa lui Aristotel

Material necesar: o bilă cu diametrul de 0,5 mm.

Tehnica: la nivelul capătului central al analizatorului cutanat există o somatotopieriguroasă. Posibilitatea de a localiza zona receptoare, excitată de un anume stimul, este dată atât de localizarea punct cu punct a suprafeţei corpului pe scoarţa emisferelor cerebrale senzoriale, cât şi de procesul de condiţionare-învăţare. Aceasta se poate demonstra prin clasica experienţă a lui Aristotel în felul următor: aşezăm bila între vârful degetului arătător şi

degetului mijlociu Avem senzaţia unei singure bile, deoarece zonele tegumentare excitate (regiunea internă a degetului arătător şi externă a degetului median) se proiectează la nivelul scoarţei în puncte foarte apropiate, a căror excitare simultană ne-am deprins să o considerăm ca fiind generată de un singur obiect. Dacă prindem bila între suprafaţa externă a degetului arătător şi suprafaţa internă a celui median, avem senzaţia de două bile, deoarece zonele de proiecţie corticală a celor două regiuni sunt mai depărtate între ele. Aceste suprafeţe ale corpului pot fi excitate simultan în condiţii normale, numai de către două obiecte, ceea ce a şi dus la formarea acestei asocieri (Figura 24).

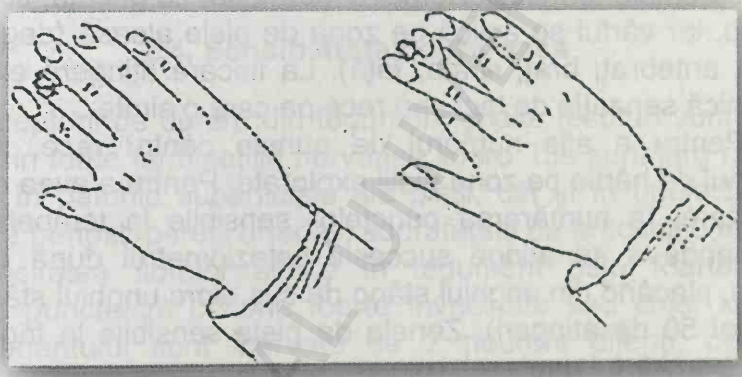


Figura 24. Experienţa lui Aristotel

Pe timpul efectuării experienței, examinatul stă cu ochii închiși, iar pentru a accentua efectul, plimbăm bila pe masă.

2.3. Sensibilitatea termică

2.3.1. Termoesteziometria

Corpusculii lui Krause sunt receptori pentru rece, iar corpusculii lui Ruffini sunt receptori pentru cald. Temperaturile foarte joase sau foarte ridicate stimulează receptorii de durere. Termoreceptorii pentru rece sunt localizaţi mai superficial în grosimea pielii (la

adâncimea de 0,16 mm). Numărul lor la om ajunge la 250.000. Termoreceptorii pentru cald sunt mai puţin numeroşi (aproximativ 30.000) şi sunt localizaţi în straturile mai profunde ale pielii (la o adâncime de 0,3 mm). La om termoreceptorii nu sunt repartizaţi uniform pe corp.

Material necesar: termoesteziometru; un şablon de hârtie, având decupat un pătrat cu suprafaţa de 1 cm^2.

Termoesteziometru este format dintr-un tub de sticlă în formă de con, la care la partea lărgită se astupă cu un dop. În vârful conului se sudează o tijă metalică cu conductibilitate termică ridicată.

Mod de lucru: pentru determinarea densităţii punctelor pentru rece, se umple termoesteziometrul (termoda) cu gheaţă, se acoperă cu dop, iar vârful se aplică pe zona de piele aleasă (degete de la mână, antebraţ, braţ, spate, faţă). La fiecare atingere examinatul comunică senzaţia de tact sau rece pe care o simte.

Pentru a afla numărul de puncte pentru rece, se aplică şablonul de hârtie pe zona pielii explorate. Pentru a avea o precizie mai mare, la numărarea punctelor sensibile la temperatură, se recomandă a se atinge succesiv esteziometrul după o linie în zigzag, plecând din unghiul stâng de sus, spre unghiul stâng de jos (în total 50 de atingeri). Zonele de piele sensibile la frig se marchează cu vârful unui creion

Numărarea punctelor pentru cald se efectuează prin acelaşi procedeu, umplând termoda cu apă de 50-60°C.

Recomandare: se va determina numărul punctelor pentru cald şi rece pe 1 cm^2 de suprafaţă a pielii din următoarele zone: degetele mâinii, antebraţ, braţ, spate şi faţă.

2.3.2. Zona termică fiziologică zero şi modificările ei adaptative

Punem în 5 cristalizoare de sticlă apă la temperaturile de 20, 25, 30, 35, 40°C. Introducem aceeaşi porţiune de mână, succesiv, la intervale de 2-3 minute, în fiecare dintre paharele de mai sus.

Zona termică, care nu determină apariţia senzaţiilor de cald sau rece, se numeşte *indiferentă sau zona fiziologică zero.* Această zonă se modifică în funcţie de adaptarea termică anterioară.

Demonstrăm astfel: în 3 cristalizoare, turnăm apă la temperaturile de 10, 20, 35°C. Introducem mâna stângă în apa la temperatura de 10°C, iar mâna dreaptă în apa cu temperatura de 35°C; vom simţi senzaţia de frig în mâna stângă şi cald în mâna dreaptă. Ţinem mâinile în apă până dispar senzaţiile termice ca urmare a adaptării (temperatura indiferentă). Când atingem această stare zero, transferăm ambele mâini în paharul cu apă la temperatura de 20°C. Vom simţi cald în mâna care anterior a stat la frig, iar în mâna care a stat la cald, vom simţi rece.

Întrebări de control: Cum se modifică informația termică la nivelul receptorului și a căii de conducere?

2.4. Sensibilitatea dureroasă

Receptorii de durere din tegument şi alte ţesuturi sunt reprezentaţi prin toate terminaţiile nervoase libere. Ele sunt larg răspândite atât în păturile superficiale ale pielii, cât şi în unele ţesuturi interne ca periost, pereţii arteriali, suprafeţele de articulaţie etc.

Densitatea fibrelor algice în tegument este foarte mare (100-200 puncte/cm^2). Zone foarte învecinate sau chiar identice ale tegumentului sunt inervate de 2 neuroni diferiţi, ceea ce determină o mare capacitate de localizare a senzaţiilor de durere în tegument.

Material necesar: şablonul de hârtie având decupat un pătrat cu suprafaţa de 1 cm^2; ac ascuţit sau *esteziometrul lui Frey*. Acesta este format dintr-un mâner, care la un capăt are fixat în unghi drept un ac ascuţit.

Mod de lucru: se aplică şablonul pe o zonă a tegumentului şi se marchează punctele apăsate, care dau naştere senzaţiilor de durere (nu de tact sau presiune). Se vor explora aceleaşi zone ca şi la esteziometrie.

Întrebări de control: Care sunt căile de conducere ale analizatorului dureros?

2.5. Determinarea pragului sensibilităţii gustative

Se cunosc 4 tipuri de stimuli gustativi primari: acid, sărat, dulce şi amar, care dau naştere la 4 tipuri de senzaţii gustative primare: acid, sărat, dulce, amar. Numărul imens de diferite gusturi pe care le poate percepe o persoană rezultă din combinarea acestor 4 senzaţii primare, la care participă şi receptorii tactili, termici şi dureroşi ai mucoasei bucale şi, într-o oarecare măsură, şi analizatorul olfactiv. Pragul sensibilităţii gustative pentru diferiţi stimuli gustativi variază foarte mult. Valoarea cea mai scăzută a pragului o prezintă stimulii amari.

Material necesar: soluţii de zaharoză, NaCl, acid citric şi chinină (fiecare în concentraţie de 1%; 0,1%; 0,01% și 0,001%), eprubete, apă distilată.

Mod de lucru:se încălzesc substanţele respective la 30°C. Se pregăteşte o serie de eprubete care conţin 5 ml de soluţie din substanţele de mai sus în concentraţie diferite. Se dă persoanei examinate câte o eprubetă (care nu trebuie să cunoască conţinutul ei), începând cu concentraţia cea mai mică şi se invită să ţină în gură conţinutul eprubetei timp de 20-30 secunde, după care să-l elimine şi să precizeze gustul. Se clăteşte apoi gura cu apă distilată. Între probe se lasă obligatoriu un interval de câteva minute.

Recomandare: Se vor nota valorile de prag obținute pentru fiecare substanță cercetată și se vor compara între ele.

Întrebări de control: Ce modificări ale gustului vor apare la oameni cu leziuni ale nervului lingual? Cum ar putea afecta gustul aspectul ambianței în care se servește masa și care ar fi mecanismul?

2.5.1. Harta câmpurilor gustative de pe limbă

Suprafaţa limbii nu prezintă o sensibilitate uniformă pentru cele 4 tipuri de excitanţi gustativi primari. Vârful limbii prezintă cea mai mare sensibilitate pentru dulce; suprafaţa laterală a zonei mijlocii a limbii – pentru acizi (acru); baza limbii – pentru amar, iar vârful şi marginile limbii pentru sărat. Porţiunea mijlocie a suprafeţei dorsale a limbii este lipsită de sensibilitate gustativă.

Material necesar: zaharoză 40%, NaCl 20%, acid acetic 2%, chinină clorhidrică 1%, baghete subţiri.

Mod de lucru: Subiectul supus experienţei este invitat să scoată limba. După ce limba se usucă, se pun succesiv cu o baghetă subţire picături de zaharoză în vârful limbii, marginile laterale, baza şi zona mijlocie a limbii. După fiecare aplicare se chestionează subiectul asupra senzaţiei percepute şi se clăteşte gura cu apă distilată. Se lasă un interval între aplicare substanţelor. Se fac aceleaşi operaţii cu celelalte substanţe.

Recomandare: datele obținute se trec sub formă de puncte pe o hartă, care reprezintă într-o formă schematizată suprafața limbii (Figura 25).

Întrebări de control: Care este structura și importanța analizatorului gustativ?

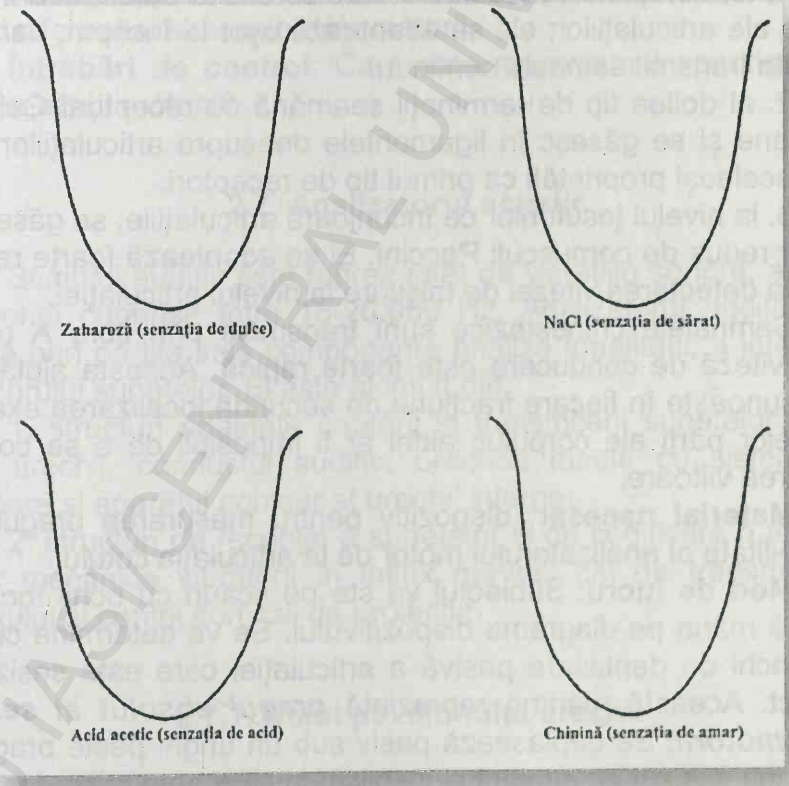


Figura 25. Harta câmpurilor gustative

2.6. Determinarea pragului absolut și diferențial al analizatorului motor

Unii receptori de la nivelul muşchilor sau tendoanelor (fusurile neuromusculare şi aparatul tendinos Golgi din tendoane) transmit impulsurile lor de la nivelul măduvei spinării sau cerebelului, în vederea controlului contracţiilor reflexe ale muşchilor.

Termenul „chinestezia" înseamnă atât recunoaşterea conştientă a orientării diferitelor părţi ale corpului, unele în raport cu altele, cât şi gradul de mişcare a diferitelor părţi ale corpului. Aceste funcţii sunt deservite cu precădere de către terminaţiile senzitive de la nivelul capsulelor articulare şi a ligamentelor deasupra articulațiilor.

Au fost descrise trei tipuri de terminaţii nervoase de la nivelul capsulelor articulare şi a ligamentelor deasupra articulaţiilor.

1. terminaţii nervoase libere care se excită puternic la mişcări bruşte ale articulaţiilor; ele se adaptează uşor la început, dar după aceasta transmit semnale continuu.

2. al doilea tip de terminaţii seamănă cu receptorii Golgi din tendoane şi se găsesc în ligamentele deasupra articulaţiilor. Prezintă aceleași proprietăți ca primul tip de receptori.

3. la nivelul ţesuturilor ce înconjoară articulaţiile, se găsesc un număr redus de corpusculi Paccini. Ei se adaptează foarte rapid şi ajută la detectarea vitezei de mişcare la nivelul articulaţiei.

Semnalele chinestezice sunt transmise prin fibre A beta a căror viteză de conducere este foarte rapidă. Aceasta ajută SNC de a cunoaşte în fiecare fracţiune de secundă localizarea exactă a diferitelor părţi ale corpului; altfel ar fi imposibil de a se controla mişcarea viitoare.

Material necesar: dispozitiv pentru măsurarea pragului de sensibilitate al analizatorului motor de la articulația cotului.

Mod de lucru: Subiectul va sta pe scaun cu ochii închiși și așează mâna pe diagrama dispozitivului. Se va determina cel mai mic unchi de deplasare pasivă a articulației care este sesizat de subiect. Această mărime reprezintă ***pragul absolut al sensibilității motorii***. Se deplasează pasiv sub un unghi peste prag care este bine sesizat de subiect și îi solicităm să repete mișcarea activ. Se stabilește gradul de reproducere al mișcării articulației.

Se va determina ***pragul de diferențiere***. În acest scop executăm una sau două deplasări pasive, identice, în articulația cotului. După aceasta mărim amplitudinea primei deplasări a articulației, iar cea de a doua deplasare rămâne constantă. Se va nota diferența minimă în grade între cele două deplasări la care subiectul sesizează prima dată această diferență. Această mărime reprezintă ***pragul diferențial al sensibilității motorii***.

Se va repeta determinarea pragului absolut și diferențial după obosirea prealabilă a mușchiului, obținută prin ridicarea și coborârea de zece ori a unei greutăți de 5 kg.

Acuitatea motorie depinde de vârstă, profesie, calificare etc.; repetarea mișcărilor prin antrenamente duce la o intensificare a sensibilității motorii putându-se astfel executa mișcări repetate cu mare precizie.

Recomandări: Se vor nota valorile obținute pentru pragul obținut și diferențial al sensibilității motorii.

Întrebări de control: Care este mecanismul apariției diferitelor senzații motorii?

2.7. Analizatorul acustic

Stimulul auditiv este reprezentat de vibraţiile sonore, având o frecvenţă cuprinsă între 16-20.000 Hz. Analizatorul auditiv realizează prin părţile sale componente analiza tonalităţii, a intensităţii şi timbrului sunetelor. El este alcătuit din:

1. structuri adaptate captării şi transmiterii sunetelor: pavilionul urechii, conductul auditiv, urechea medie cu sistemul de osişoare şi aparatul cohlear al urechii interne;

2. structuri de recepţie a sunetelor şi de codificare a fenomenelor mecanice vibratorii în influx nervos; căi de transmitere a influxului şi centrii corticali de proiecţie.

2.7.1. Rolul pavilionului urechii

Material necesar: tub de cauciuc de 2m; ceasornic.

Mod de lucru: se introduce un capăt al tubului în canalul auditiv extern. Prin aceasta s-a înlăturat funcţional pavilionul urechii.

În cea de-a doua ureche introducem un dop de vată. La capătul liber al tubului de cauciuc întins se ţine un ceasornic. Prin intermediul tubului se aud bătăile ceasornicului. Dacă se depărtează puţin ceasornicul de capătul tubului nu se mai aude nimic. Scoţând tubul din ureche pot fi auzite bătăile ceasornicului aflat la distanţa anterioară. Prin aceste experimente am demonstrat *rolul pavilionului urechii în captarea sunetelor.*

Rol în localizarea sursei sonore:ambele capete ale tubului de cauciuc se introduc în cele două canale auditive externe. Persoana examinată stă cu ochii închişi. Se aşează ceasornicul la mijlocul tubului de cauciuc după care se plimbă tubul de cauciuc în faţa persoanei şi chestionăm persoana asupra localizării sunetului. Niciodată ea nu va putea determina direcţia corectă a sunetului.

Se pune ceasornicul pe tubul de cauciuc mai aproape de urechea stângă după care mutăm succesiv tubul cu tot cu ceasornic în diferite direcţii şi de fiecare dată solicităm persoana să localizeze sunetul. De fiecare dată ea îl va localiza de partea stângă.

Localizarea sursei sonore se face prin două mecanisme:

1. diferenţa de timp între pătrunderea sunetelor în cele două urechi;

2. diferenţa sonorităţii sunetelor în cele două urechi.

Primul mecanism funcţionează mai bine la frecvenţe sub 3000Hz, iar cel de al doilea la frecvenţe mai mari, deoarece la această frecvenţă, capul acţionează ca o barieră. Cu ajutorul primului mecanism localizarea se face mai exact. Unii subiecţi pot detecta diferenţe în sosirea undelor sonore la cele două urechi de 0,01 milisecunde.

2.7.2. Transmiterea sunetelor prin oasele cutiei craniene

În afară de conducerea aeriană a undelor sonore, este posibilă transmiterea lor direct prin oasele cutiei craniene. Transmiterea în acest din urmă caz este mai puţin eficace. Pe capacitatea oaselor cutiei craniene de a transmite vibraţiile sonore, se bazează unele teste medicale de stabilire a tipurilor de surditate. Ca mecanism de producere surditatea poate fi ***de transmisie***, interesând sistemul de transmitere a sunetelor din conductul auditiv până la receptori;

surditate de percepţie produsă de leziuni pe traiectul receptor până la capătul cortical inclusiv şi ***surditate mixtă*** produsă prin ambele procese.

Proba Weber

Material necesar: diapazon, vată, tub cauciuc.

Diapazonul în vibraţie, aşezat pe frunte sau pe vertex, este auzit în condiţii normale cu aceeaşi sonoritate în ambele urechi (*Weber indiferent*) (Figura 26). Dacă punem un tampon de vată în una dintre urechi, atunci sunetul perceput de urechea respectivă va fi mai puternic, ca urmare a diminuării pierderii energiei sonore prin conductul auditiv extern.

Pentru a dovedi că o parte din energia sonoră difuzează prin conductul auditiv extern, unim urechile a două persoane cu un tub de cauciuc şi aşezăm diapazonul în vibraţie pe capul unei persoane. Cea de a doua persoană va auzi sunetul ca urmare a transmiterii undelor sonore din conductul auditiv extern al primei persoane.

În cazul surdităţii de transmisie sunetul este auzit numai în urechea bolnavă, iar în cazul surdităţii de percepţie sunetul se aude numai în urechea sănătoasă.

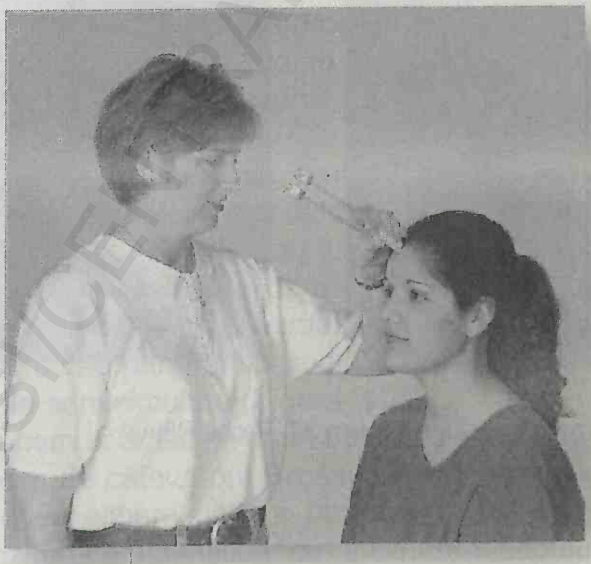


Figura 26. Proba Weber

Compararea transmiterii aeriene şi osoase. Proba Rinne

Material necesar: diapazon, cronometru, vată.

Proba se face pe ambele urechi, cea neexaminată fiind astupată cu vată umezită (Figura 27). Un diapazon în vibraţie aşezat pe mastoidă se aude cu o sonoritate care scade treptat iar la un moment dat dispare (aproximativ 20 secunde). Dacă îl aşezăm imediat în faţa pavilionului va mai fi auzit 40 secunde (***Rinne pozitiv normal***). Dacă e auzit pe mastoidă, dar în faţa pavilionului, diapazonul nu mai este auzit, acesta constituie un indiciu de lezare al aparatului de transmisie (***Rinne negativ***). Auzirea mai puţin de 40 secunde în faţa pavilionului indică surditate de percepţie (***Rinne pozitiv prescurtat***).

Recomandări: Se vor nota rezultatele obținute.

Întrebări de control: Ce segment din analizatorul acustic este afectat în cazul în care: a) urechea stângă recepționează mai bine sunetele prin transmisie osoasă; b) urechea dreaptă recepționează rău sunetele atât prin transmisie osoasă, cât și aeriană?

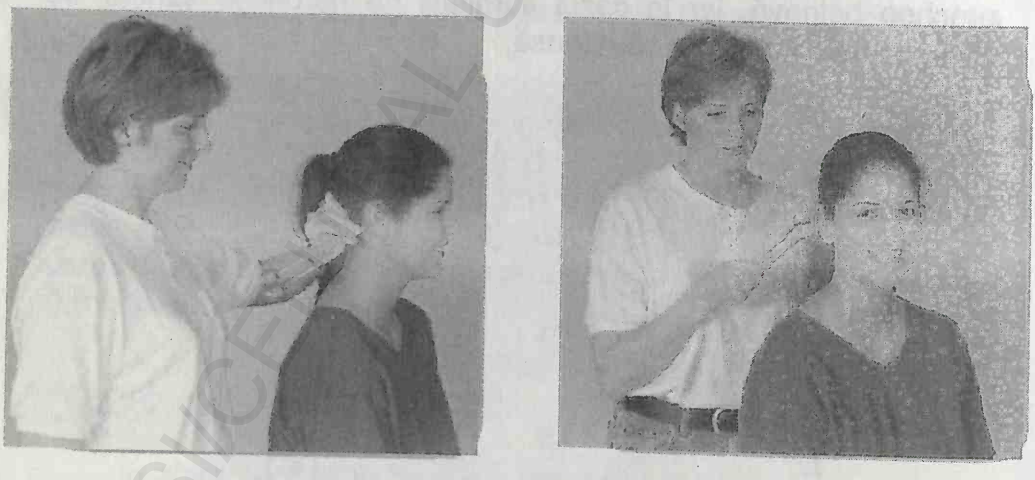


Figura 27. Proba Rinne

2.8. Extirparea aparatului vestibular la broască

Aparatul vestibular conține în utriculă, saculă și ampulele canalelor semicirculare receptori care nu au legătură directă cu receptorii auditivi din cohlee, fiind responsabili de menținerea echilibrului.

Pe cale reflexă receptorii vestibulari contribuie la menținerea poziției normale a capului animalului imobil (reacții statice de postură care se efectuează prin maculele din utriculă și saculă sau declanșează reflexe la accelerații imprimate capului prin canalele semicirculare ai căror receptori diferențiați sunt crestele ampulare).

Labirintectomia bilaterală determină o pierdere accentuată cu caracter temporar a tonusului musculaturii corpului. Prin leziuni unilaterale se produce o înclinare a capului spre partea lezată ca rezultat al predominării tonusului mușchilor cefei din partea lezată prin impulsurile eferente ale labirintului integru din partea opusă. Datorită poziției vicioase a capului trunchiul se încovoaie și animalul se rotește în jurul său. După un timp intervin mecanisme compensatoare,proprioceptive și vizuale, în special la primate și la om, datorită cărora animalul își corectează poziția.

Material necesar: broască, ac spatulat, acvariu, pensă hemostatică, bisturiu.

Mod de lucru: Se fixează broasca pe plută cu fața ventrală în sus. Se deschide gura, se scoate limba pe care o prindem cu o pensă hemostatică și împreună cu mandibula se trage spre abdomen.

Se secționează pe linie mediană mucoasa vălului palatin deasupra osului parasfenoid și cele două laturi ale secțiunii se trag de o parte și de alta până în dreptul cavităților orbitale. Se observă două oase transversale ale parasfenoidului. Radem cu bisturiul periostul de pe oasele transversale. În zonele laterale ale osului parasfenoid se văd prin transparență inelele albicioase, care reprezintă canalele semicirculare (Figura 28).

Introducem la acest nivel un ac spatulat (la adâncimea de 1-2 mm) și îl rotim de câteva ori. Broasca suportă relativ ușor această operație. Se va elibera ulterior broasca. După câteva minute se observă poziția caracteristică cu înclinarea capului spre partea operată. Excitând mecanic membrul posterior, broasca va executa mișcări de înot circulare.

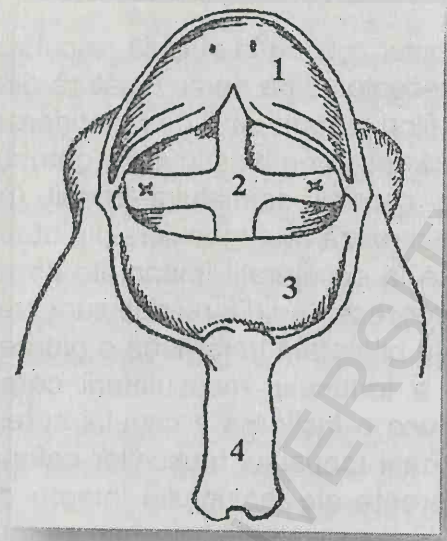


Figura 28. Labirintectomia la broască
1. maxilar superior; 2. parasfenoid; 3. maxilar inferior; 4. limba

După distrugeri bilaterale ale aparatului vestibular, broasca va rămâne imobilizată în primele momente după operație. Prin atingeri execută mișcări necoordonate și cade ușor, în special pe spate. După un timp reapare capacitatea de a executa deplasări mici. În acest caz orientarea se realizează cu ajutorul vederii. Dacă se vor acoperi ochii broasca rămâne complet neajutorată și se comportă ca și în primele momente postoperatorii.

Recomandări: Se va schița poziția broaștei după labirintectomie.

Întrebări de control: Cum se va modifica tonusul mușchilor flexori și extensori după extirparea unilaterală a labirintului: a) pe partea lezată și b) pe partea opusă.

2.9. Analizatorul optic

2.9.1. Excitarea mecanică a ochiului

Excitantul adecvat al analizatorului optic este energia luminoasă – oscilaţiile electromagnetice – cu o lungime de undă 302-950 μm.

Ochiul poate fi excitat şi de către excitanţi inadecvaţi: închideţi pleoapele şi apăsaţi puternic pe globul ocular. Descrieţi senzaţia apărută. Aceste senzaţii luminoase poartă denumirea de ***fosfene***. Aceasta demonstrează teoria specificităţii organelor de simţ conform căreia ca rezultat al evoluţiei, receptorul răspunde la orice excitant, adecvat sau inadecvat, pe linia specializării sale, deoarece nu foloseşte decât informaţia codificată pentru care s-a specializat. Sistemul nervos central transformă codul de semnalizare aferent, corespunzător cu tipul de senzaţii specifice pentru organul receptor dat.

2.9.2. Acuitatea vizuală (testul Snellen)

Testul Snellen este folosit pentru evaluarea *acuității vizuale*. Testul constă în utilizarea unei diagrame (Figura 29) ce conține litere de diferite dimensiuni pe un fond alb. Literele din partea superioară a diagramei sunt mari și vor descreşte corespunzător spre partea inferioară a diagramei.

În dreptul fiecărui set de litere este indicată o valoare a acuității vizuale sub forma unui raport. De exemplu, în dreptul unui set de litere din partea inferioară a digramei se indică raportul 20/20. O persoană cu vedere normală (emetrop) poate vedea clar aceste litere de la o distanță standard de 20 picioare (6 m) corespunzător raportului 20/20.

Setul de litere din partea superioară a diagramei prezintă raportul 20/200. O persoană cu vedere normală (emetrop) poate vedea claraceste litere de la o distanță de 200 picioare (60 m). Astfel, unui individ care este capabil să vadă literele din partea superioară a diagramei de la o distanță de 20 picioare (6 m) îi va corespunde raportul 20/200. Această persoană are o acuitate vizuală scăzută. Un alt set de litere din partea inferioară a diagra-

mei prezintă raportul 20/15. Un individ normal poate vedea aceste litere de la o distanță de 15 picioare (4,5 m), dar este capabil să le observe și de la 20 picioare (6 m). Această persoană are o acuitate vizuală ridicată.

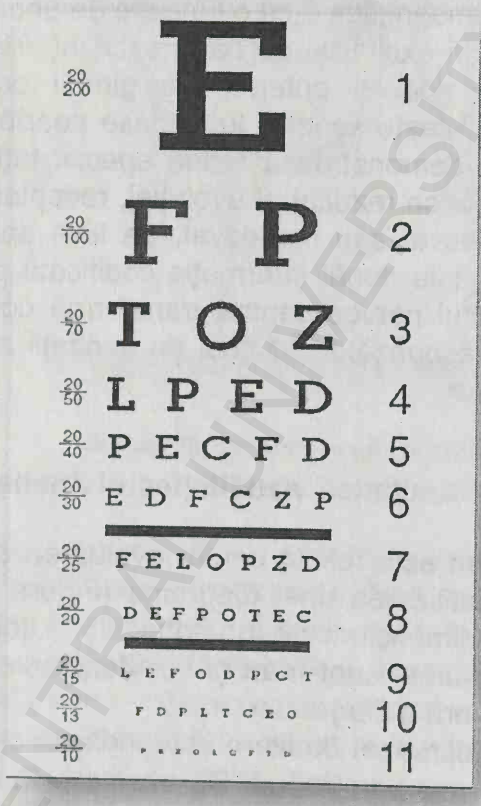


Figura 29. Diagrama Snellen

Material necesar: diagrama Snellen

Mod de lucru: Diagrama Snellen se va plasa într-o cameră bine iluminată la nivelul ochilor. Persoana evaluată se va plasa în fața diagramei la o distanță de 6 m, acoperindu-și ochiul stâng. Va fi ulterior invitată să citească cel mai mic set de litere din diagramă. Se va înregistra într-un tabel valoarea acuității vizuale pentru setul de litere corespunzător. Se va repeta procedura și pentru ochiul stâng.

2.9.3. Testarea astigmatismului

Astigmatismul reprezintă un defect al vederii normale cauzat de modificarea curburii corneei sau feței anterioare a cristalinului. Astigmatismul poate fi evaluat utilizând o diagramă pentru astigmatism (Figura 30).

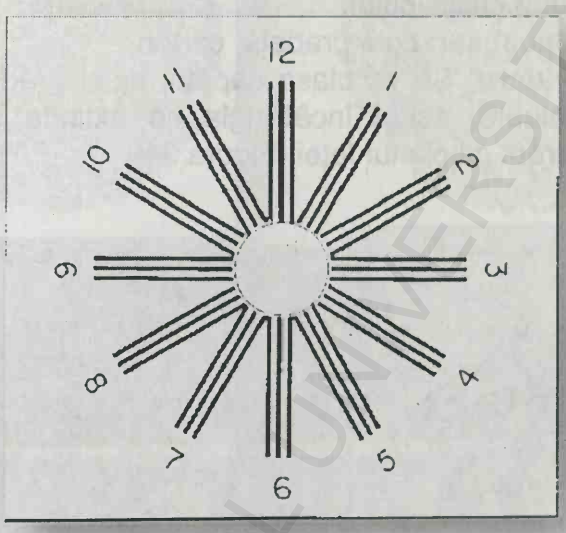


Figura 30. Diagramă pentru evaluarea astigmatismului

Această diagramă este reprezentată de un set de linii care radiază în jurul unui disc central luminat. Pentru o persoană cu vederea normală (emetrop) aceste linii se distribuie uniform în jurul discului și sunt clare. La astigmatici, unele linii sunt clare, în timp ce alte linii își pierd din claritate.

Material necesar: diagramă pentru evaluarea astigmatismului

Mod de lucru: Diagrama pentru evaluarea astigmatismului se va plasa într-o cameră bine iluminată, la nivelul ochilor. Persoana evaluată se va plasa în fața diagramei la o distanță de 6 m, cu privirea fixă spre discul central luminat, având ochiul stâng acoperit. Persoana va raporta într-un tabel care dintre linii sunt văzute clar și care își pierd din claritate. Se va repeta procedura și pentru ochiul stâng.

2.9.4. Acomodarea ochiului

Prin acomodare se înţelege adaptarea ochiului pentru perceperea clară a obiectelor. Ea se reduce la focalizarea pe retină a imaginilor obiectelor aflate la diferite distanţe. La animalele superioare şi la om, acomodarea se realizează prin modificarea puterii de convergenţă a cristalinului.

Material necesar: riglă gradată, carton

Mod de lucru: Se va plasa capătul riglei gradate în bărbia persoanei evaluate, astfel încât rigla se extinde spre exterior într-un unghi drept cu planul feței (Figura 31).

Figura 31. Evaluarea acomodării ochiului

Persoana evaluată va acoperi ochiul stâng. Se va plasa cartonul pe care este tipărit un cuvânt la o anumită distanță de ochiul drept. Se va deplasa cartonul de-a lungul riglei spre ochiul drept al persoanei evaluate, identificându-se cel mai apropiat punct de ochi la care persoana poate vedea clar cuvântul tipărit pe carton. Punctul cel mai apropiat de ochi la care persoana vede clar cuvântul tipărit pe carton se numește *punct umproximum* și tinde să se depărteze de ochi odată. Se va repeta procedura și pentru ochiul stâng iar toate rezultatele vor fi trecute într-un tabel.

2.9.5. Vederea colorată

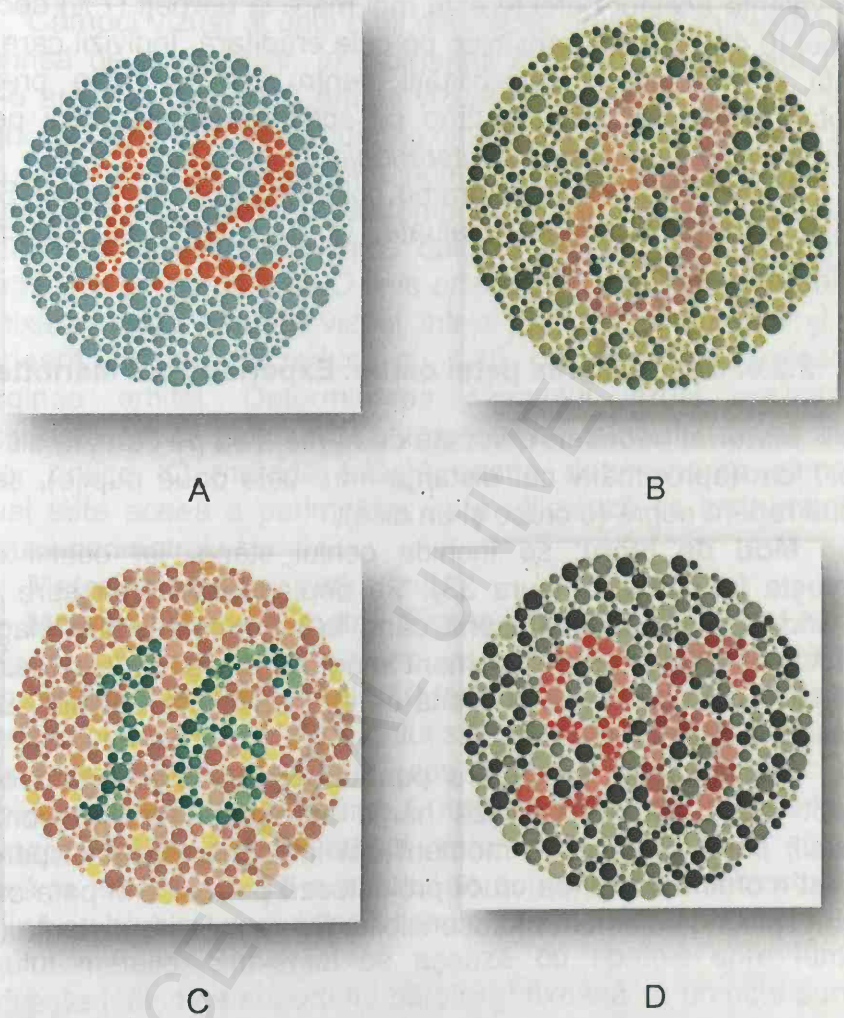


Figura 32. Evaluarea vederii colorate
A. toți indivizii vor vedea cifra 12;
B. indivizii normali văd cifra 8, iar cei cu deficiențe văd cifra 3;
C. indivizii normali văd cifra 16, iar cei cu deficiențe nu o disting;
D. indivizii normali văd cifra 96, iar cei cu protanopie văd doar 6, cei cu deuteranopie văd doar 9.

Unele persoane manifestă defecte ale vederii colorate datorită lipsei unor celule cu con sensibile la lumina roșie sau verde. Prevalența acestor defecte este mai mare la bărbați (7%) decât la femei (0,4%) și sunt transmise pe cale ereditară. Indivizii care prezintă o scădere a sensibilității pentru lumina roșie prezintă *protanopia* (daltonism), în timp ce scăderea sensibilității pentru lumina verde se numește *deuteranopia*.

Material necesar: diagrame colorate; **Mod de lucru**: Se va plasa în fața persoanei evaluate, la o distanță de 75 cm, o diagramă colorată (Figura 32).

2.9.6. Demonstarea petei oarbe. Experienţa lui Mariotte

Material necesar: o bucată de hârtie albă pe care, la distanţa de 7 cm (aproximativ cât distanţa între cele două pupile), se fac două repere negre (o cruce şi un disc).

Mod de lucru: se închide ochiul stâng, iar ochiul drept priveşte fix crucea (Figura 33). Se deplasează hârtia spre ochi, privind continuu crucea, până când la un moment dat imaginea discului dispare. În acest moment imaginea discului proiectează pe retină în pata oarbă, zonă lipsită de elemente fotosensibile. Se va măsura distanța.

Se va repeta procedura pentru ochiul stâng, având ochiul drept închis. Se deplasează hârtia spre ochi, privind continuu discul, până când la un moment dat imaginea crucii dispare. În acest moment imaginea crucii proiectează pe retină în pata oarbă, zonă lipsită de elemente fotosensibile. Se va măsura distanța.

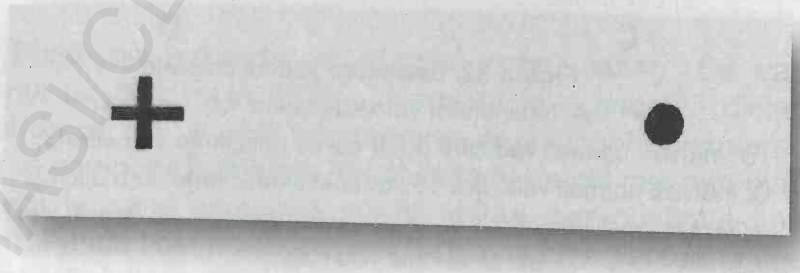


Figura 33. Experiența lui Mariotte

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

2.9.7. Determinarea câmpului vizual

Câmpul vizual al unui ochi este acea parte a lumii exterioare, cuprinsă de acest ochi, în momentul în care privirea este fixată într-o anumită direcţie. Câmpul vizual al fiecărui ochi cuprinde un unghi de circa 160° în meridianul orizontal şi 145° în cel vertical. O linie verticală care trece prin punctul de fixare împarte câmpul vizual într-o parte externă sau temporală şi una internă sau nazală. Partea internă este mai mică datorită umbrei nasului şi are o deschidere de aprox. 60°. O linie orizontală care trece prin punctul de fixare divide câmpul vizual într-o porţiune superioară şi una inferioară, prima fiind redusă cu 3-10° de pleoapa superioară şi marginea orbitei. Determinarea câmpului vizual prezintă şi importanţă clinică în stabilirea leziunilor de la nivelul retinei sau a căilor optice. O metodă exactă pentru determinarea câmpului vizual este aceea a perimetriei, care utilizează ca instrument de măsură perimetrul.

Material necesar: perimetrul.

Mod de lucru: perimetrul (Figura 34) cuprinde un braţ metalic de forma unui arc de cerc mare, cu concavitatea îndreptată spre subiect. Arcul este divizat din 10 în 10° de la 0 la 100°. Un suport care alunecă pe suprafaţa arcului susţine obiectul test, care poate fi deplasat astfel spre centru sau periferie. Braţul metalic este mobil, în centrul său putând fi rotit cu orice unghi, gradul de înclinare faţă de planul vertical, zero, fiind indicat de o săgeată prinsă la locul de fixare a arcului de suport. Capul subiectului se sprijină cu bărbia pe un suport special pentru bărbie, aşezat în faţa braţului metalic. Subiectul se aşează cu spatele spre lumină, potriveşte înălţimea suportului bărbiei şi fixează cu un ochi punctul alb situat în centrul braţului metalic. Celălalt ochi este acoperit cu palma. Experimentatorul aşează arcul în plan vertical şi deplasează obiectul test dinspre periferie spre centru, până când subiectul, a cărui privire este aţintită tot timpul asupra punctului alb, sesizează apariţia obiectului test în câmpul său vizual. Se notează numărul de grade de pe arc, la care apare testul. Braţul metalic este rotit treptat din 30 în 30° până la 360° şi în fiecare poziţie nouă pe care i-o dăm se deplasează obiectul test spre centru până când este perceput de subiect. Toate aceste puncte (numărul de grade

de pe arc), corespunzătoare fiecărei poziţii a braţului, sunt notate pe o diagramă perimetrică, prin unirea cărora se obţine delimitarea conturului câmpului vizual.

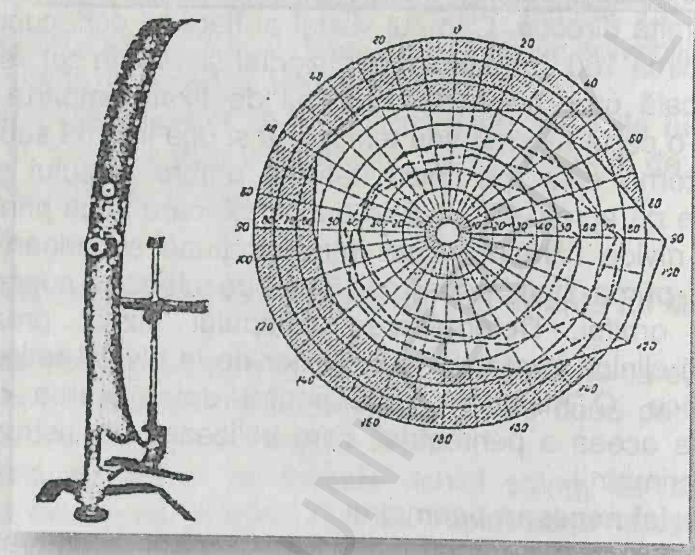


Figura 34. Perimetrul și diagrama câmpului vizual

CAPITOLUL 3

FIZIOLOGIA SÂNGELUI

3.1. Numărarea elementelor figurate

3.1.1. Numărarea eritrocitelor

Principiul metodei: Determinarea numărului de elemente figurate din sânge are la bază numărarea directă la microscop a celulelor dintr-un volum cunoscut de lichid care a fost diluat în prealabil într-o proporţie cunoscută. Diluarea sângelui este necesară, atât pentru prevenirea proceselor de coagulare, cât şi pentru reducerea densităţii celulelor.

Materiale necesare: lichid de diluţie; pipete de diluţie; hemocitometre; microscop optic Kruss; ace pentru puncţie; alcool sau eter; vată medicinală.

Lichidul de diluţie **sau*reactivul Hayem*** este o soluţie care trebuie să fie izotonică cu hematiile, să conţină un fixativ pentru forma globulelor roşii şi să împiedice autoliza şi aglutinarea lor. Se mai poate folosi şi reactivul Gowers sau serul fiziologic.

Pipeta de diluţie a hematiilor (Figura 35A) este o pipetă specială, care conţine 101 volume perfect calibrate, din care un volum revine capilarului. Capilarul este subdivizat în 10 unităţi egale, cu inscripţia 0,5 şi 1, iar 100 de volume aparţin bulei de diluţie. În această bulă se află o biluţă de culoare roşie, care este un semn de recunoaştere pentru tipul pipetei.

În partea sa superioară, pipeta se racordează la un tub de cauciuc, care permite aspirarea uniformă a lichidelor şi care se termină cu un muştiuc din material plastic. Dacă sângele este tras în capilar până la diviziunea 0,5 sau 1 şi se completează cu soluţie Hayem până la notaţia 101, se obţine o diluţie a lichidului biologic

de 200, respectiv de 100 ori. După întrebuinţare, pipeta se spală cu apă, eter sau alcool.

Hemocitometrul (Figura 35B) sau *camera de numărare* este o lamă de sticlă groasă, cu un locaş pătrat adâncit cu 0,1 mm faţă de restul lamei, locaş pe fundul căruia este gravată o reţea, de dimensiuni cunoscute. Adâncimea de 1/10 dintr-un mm face ca sub lamela care acoperă locaşul să se delimiteze un strat de lichid în care hematiile să se etaleze într-un singur nivel, făcând posibilă numărarea.

Există mai multe tipuri de camere de numărare, însă orice hemocitometru are inscripţionat: tipul, înălţimea locaşului şi suprafaţa pătratului mic, care în mod curent este de 1/400 mm^2, şi a pătratului mare (1/25 mm^2). Dintre tipurile cunoscute, se menţionează hemocitometrele: *Thoma; Burker; Burker-Turck; Goreaev* etc. În laborator vom lucra cu camera *Burker-Turck,* cu suprafaţa reţelei de 9 mm^2, împărţită în 9 pătrate de câte1 mm^2, delimitate prin linii triple. Fiecare pătrat de 1 mm^2 este delimitat prin linii triple în 16 pătrate de ordinul II, fiecare cu suprafaţa de 1/25 mm^2. Fiecare pătrat de ordinul II este împărţit prin linii simple în 16 pătrate de ordinul III, cu suprafaţa de 1/400 mm^2 (Figura 35C).

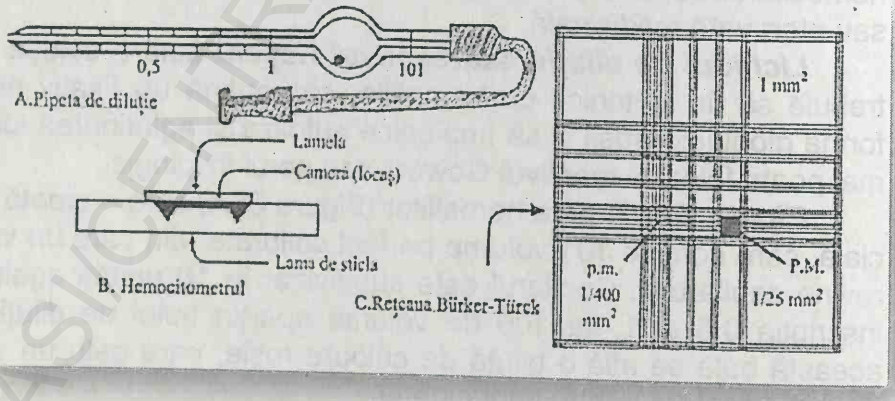


Figura 35. Pipeta şi hemocitometrul pentru numărarea eritrocitelor

Mod de lucru: Pentru recoltarea sângelui dezinfectăm şi degresăm pulpa degetului inelar cu alcool sau eter, după carefacem o înţepătură în zona laterală, prin lovitură bruscă şi unică. Aspirăm din cea de a doua picătură până la diviziunea 0,5 după care aspirăm în continuare soluţie Hayem până la diviziunea 101. Aducerea nivelului sângelui până la diviziunea 0,5 trebuie făcută cu acurateţe, iar vârful pipetei se va şterge cu o hârtie de filtru curată, înainte de a fi introdus în soluţia Hayem. După umplerea pipetei, aceasta se agită în lungul axei longitudinale, ţinând muştiucul între primele falange ale degetelor index şi median şi cele 2 capete ale pipetei între degetul mare şi cel mic de la aceeaşi mână. După omogenizare, pipeta se lasă la repaus la orizontală.

Pentru umplerea camerei de numărat, aplicăm lamela aburită pe lamă, o facem să adere cât mai bine, fapt verificabil prin observarea ***inelelor lui Newton,*** care sunt nişte inele colorate de refracţie, care confirmă aderenţa perfectă a lamei de lamelă. Se agită pipeta pentru omogenizarea conţinutului bulei şi, după ce se scurg 2-3 picături pe hârtia de filtru, lăsăm o picătură să pătrundă prin capilaritate între lamă şi lamelă. Pipeta rămâne pe orizontală pentru repetarea probei, în caz de spargere a lamelei sau de pătrundere a bulelor de gaz sub lamelă.

Se trece la *numărarea eritrocitelor* înpătratele de 1/400 mm^2, şi anume, cele 16 pătrate mici se vor număra în ordinea schiţată în Fig.36, adică se începe din stânga sus pentru fiecare pătrat mare şi se termină în stânga jos. În fiecare pătrat mic luăm în calcul eritrocitele care sunt situate mai mult de 50% din suprafaţa celulei în interiorul careului şi eliminăm pe cele care sunt mai mult în afară. În total, se vor număra 5 pătrate mari a câte 16 pătrate mici, adică un total de 80 pătrate mici. Suma globulelor de pe cele 16 pătrate mici se notează, iar cele 5 valori de la 5 pătrate mari se însumează şi se divide suma la 80, aflând numărul mediu de globule de pe un pătrat mic.

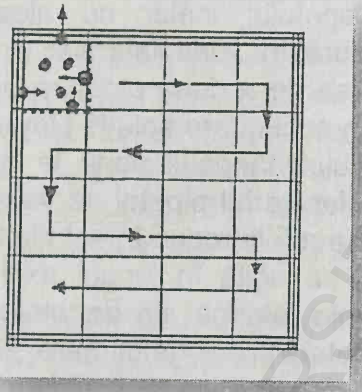


Figura 36. Direcția de numărare a eritrocitelor

Pentru a calcula numărul de hematii dintr-un µl de sânge nediluat, se înmulţeşte valoarea găsită (media pe un pătrat mic) cu 800.000, cifră care provine din produsul: 4.000 x 200, în care 200 este diluţia, iar 4.000 este valoarea cu care înmulţim media pentru a ne raporta la 1 mm^3, această medie fiind găsită în 1/4.000 mm^3, adică 1/400 x 1/10 (suprafaţa pătratului mic x înălţimea coloanei de lichid). De exemplu, presupunând o valoare numărăm 5 pătrate mari, facem suma globulelor găsite (de exemplu 400 globule), pe care o înmulţim cu 10.000, rezultând 4.000.000/mm^3. Valoarea de 10.000 rezultă astfel:

5 x 1/25 = 1/5 mm^2 x 1/10 = 1/50 mm^2 x 200 = 50 x 200 = 10.000

Valorile fiziologice normale pentru om sunt următoarele (Guyton and Hall, 2006):

- bărbat: 5.200.000 - 5.500.000 eritrocite/µl
- femeie: 4.700.000 - 5.000.000 eritrocite/µl
- nou-născut: 4.000.000 eritrocite/µl

Globulele roşii se regenerează în măduva osoasă, trăiesc până la 120-160 zile, iar distrugerea lor se face în splină, ficat şi măduva osoasă. În timp de numai o secundă se formează şi se distrug 2.500.000 eritrocite, deci păstrarea constantă a numărului lor este un mecanism perfect reglat. În cazuri patologice numărul

globulelor roşii se modifică, fie caîn cazul *poliglobuliei,* aşa cum apare în emfizemul pulmonar, în intoxicarea cu CO_2, cianuri etc. precum şi în hemoragiile mici şi repetate, fie prin *reducerea numărului de hematii* sub 4 milioane/µl, caîn anemiile posthemoragice, anemiile hemolitice sau nutriţionale.

3.1.2. Numărarea leucocitelor

Leucocitele sau globulele albe sunt celule nucleate, care, în mod normal, se găsesc în sângele circulant al adultului între 5.000 şi 9.000/µl, iar la copii între 4500-13.000/µl (Guyton and Hall, 2006). Pentru a fi observabile, leucocitele se colorează cu coloranţi vitali.

În funcţie de forma nucleului, globulele albe sanguine se împart în leucocite agranulare (agranulocite), cu nucleu unilobat (mononucleare), din care fac parte limfocitele (30%) şi monocitele (5,3%) şi leucocite granulare (granulocite) cu nucleu polilobat (polimorfonucleare), din care fac parte neutrofilele (62%), acidofile sau eozinofilele (2,3%) şi bazofilele (0,4%) (Guyton and Hall, 2006).

Limfocitele sunt celule mici, cu nucleu puternic colorat, înconjurat de o pătură subţire de citoplasmă. Pe lângă funcţia imunitară de bază, limfocitele se pot transforma în celule conjunctive (fibrocite), participând la înlocuirea ţesuturilor uzate, iar limfocitele mici se transformă în celule stem, adică celule precursoare (cap de serie) pentru regenerarea liniilor celulare sanguine.

Monocitele sunt celule puţin mai mari decât limfocitele şi au capacitatea de a îngloba resturi microbiene, sau celule senescente, contribuind la purificarea ţesuturilor.

Polimorfonuclearele au afinitate tinctorială diferită, iar citoplasma este granulată.

Neutrofilele sunt cele mai numeroase (62% din totalul leucocitelor), mobilitatea lor fiind maximă, ceea ce le face să intervină primele în procesele infecţioase, fagocitând resturile celulare şi germenii de talie mică, ele fiind denumite şi microfage. Granulaţiile citoplasmatice au afinitate şi pentru coloranţii acizi şi pentru cei bazici.

Acidofilele (eozinofilele) sunt astfel denumite fiindcă se recoltează şi se pun în evidenţă cu ajutorul unui lichid de diluţie pe bază de acetonă-eozină. Densitatea lor este mică (100-200 celule/µl). Granulaţiile citoplasmatice sunt bazice şi au afinitate către coloranţii acizi. Numărul acestor elemente figurate (testul Thorn) ajută la evaluarea activităţii CSR (corticosuprarenalei).

Eozinofilele au activitate fagocitară intensă, ajutând la curăţirea sângelui de hematii bătrâne sau degenerate, resturi celulare etc. (eritroclazia).

Bazofilele sunt cele mai puţine leucocite, au rol fagocitar redus. Prin distrugerea granulaţiilor citoplasmatice (degranulare) sunt puse în libertate: heparina, un factor antitrombinic natural, care intervine în hemostază (anticoagulant), având şi rol important în stimularea metabolismului lipidic; histamina şi serotonina, cu rol important în procesele inflamatorii, creşterea permeabilităţii vasculare şi stimularea contracţiei muşchilor netezi.

Formarea leucocitelor are loc atât în măduva roşie a oaselor (polimorfonuciearele) şi în sistemul reticulohistocitar (SRH), unde se regenerează monocitele, cât şi în splină şi ganglionii limfatici, unde se regenerează limfocitele. Leucocitele se caracterizează printr-un fenomen de marginaţie, în sensul că 50% dintre ele circulă activ în fluxul sanguin, iar restul rămân aderente la endoteliul vascular, gata de a interveni atunci când necesităţile organismului o cer. Durata de viaţă a leucocitelor este mult mai mică decât cea a globulelor roşii, nedepăşind 15 zile, din care în torentul sanguin, unde se află doar „în tranzit" pentru câteva ore, restul vieţii petrecând-o în ţesuturi şi organe, unde-şi îndeplinesc funcţia de apărare a organismului.

Distrugerea leucocitelor are loc în piele, splină, ficat, plămâni şi ganglionii limfatici.

Leucocitele se caracterizează prin existenţa unui sistem enzimatic foarte bogat, precum şi prin capacitatea de a executa mişcări amoeboidale, cu ajutorul cărora trec prin pereţii capilarelor, din sânge în limfă şi invers (diapedeză). În plus, leucocitele au capacitatea de a forma pseudopode, prin care înglobează substanţe străine, ce provin din viruşi, bacterii şi resturi celulare pe care le digeră, procesul fiind cunoscut sub numele de fagocitoză, pentru

descoperirea căruia Ilia Metcinikov a obţinut Premiul Nobel în anul 1908 (Misăilă şi Dumitru, 2010).

Pipeta pentru leucocite seamănă ca formă cu cea pentru hematii, dar este mai mică, pentru că şi diluţia este mai mică. Această pipetă are 11 volume, din care un volum revine capilarului şi 10 bulei de diluţie. Dacă recoltăm până la diviziunea 0,5 diluţia este 1/20, iar până la diviziunea 1, diluţia este 1/10. Ca semn de recunoaştere, pipeta pentru leucocite are biluţa de culoare albă.

Lichidul de diluţie este soluţia Türck, care este o soluţie de albastru de metilen în acid acetic glacial şi apă.

Mod de lucru: se aspiră sângele din aceeaşi înţepătură de unde am recoltat şi pentru hematii, până la diviziunea 0,5 după care se diluează până la diviziunea 11. Se agită eprubeta ca şi în cazul eritrocitelor şi se lasă în repaus.

Citirea se face pe acelaşi hemocitometru, în pătratele mari de la colţurile reţelei (16 pătrate însumând în total 1 mm^2). Suma leucocitelor din suprafaţa de 1 mm^2 se înmulţeşte cu 200, adică 20 (diluţia) x 10 (h). De exemplu, 40 leucocite x 200 = 8.000 leucocite/µl.

În mod normal, în sângele periferic sunt numai celule adulte, însă în cazuri patologice apar şi celule imature. În leucemii, numărul leucocitelor atinge 1.000.000/µl. În infecţii cresc puternic neutrofilele, iar în leucemii creşte numărul limfocitelor, precum şi cel al celulelor imature, iar în alergii şi parazitoze cresc acidofilele.

3.2. Hematocritul

Sângele este considerat un ţesut conjunctiv de consistenţă fluidă, în care substanţa fundamentală este reprezentată de plasmă, iar celulele, de elemente figurate. Există un raport plasmoglobular (55% plasmă la 45% elemente figurate din volumul total al sângelui) (Figura 37), care în condiţii fiziologice se menţine în limite constante. Modificările acestui raport sunt explorate prin ***metoda hematocritului***, un parametru foarte important în diagnosticul şi evoluţia şocurilor hemoragice, deoarece în urma unei pierderi masive de sânge, elementele figurate se refac pe altă cale şi mai încet decât plasma.

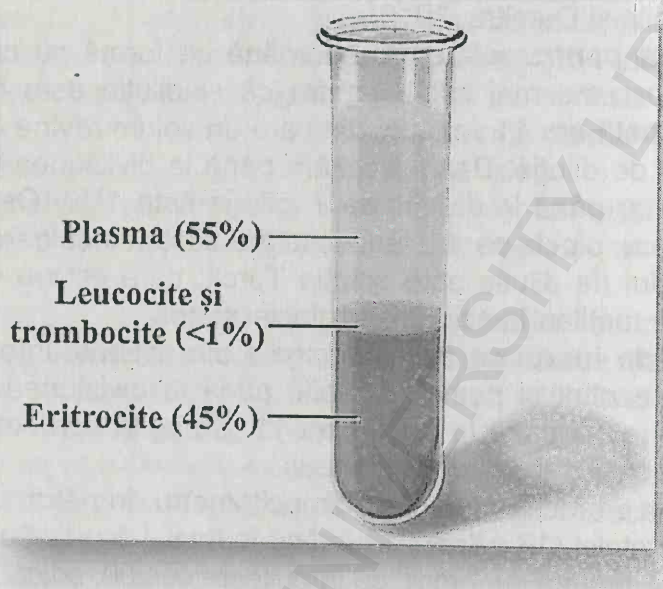


Figura 37. Raportul plasmoglobular

Principiul lucrării: termenul *hematocrit* se referă în realitate la tubul folosit în vederea determinării raportului plasmei sangvine la suma elementelor figurate sau numai a eritrocitelor. În practică acest termen reprezintă procentul volumului eritrocitar din sângele integral.

3.2.1. Microhematocritul

Materiale necesare: sânge recoltat pe anticoagulant, tuburi Mett pentru microhematocrit, centrifugă.TuburileMett sunt capilare de sticlă cu lungimea de 5 cm și negradate.

Mod de lucru: se umple tubul cu sânge prin capilaritate (Figura 38A) și se închide la ambele capete cu un chit special, ceară sau plastilină (Figura 38B). Se centrifughează 10 minute la 3000 rpm, într-o centrifugă specială pentru microhematocrit (Figura 38C). Dacă tubul de hematocrit este gradat în mm, se face citirea direct. Considerând înălțimea coloanei de sânge centrifugat în tub 100, se exprimă în procente înălțimea coloanei de hematii.

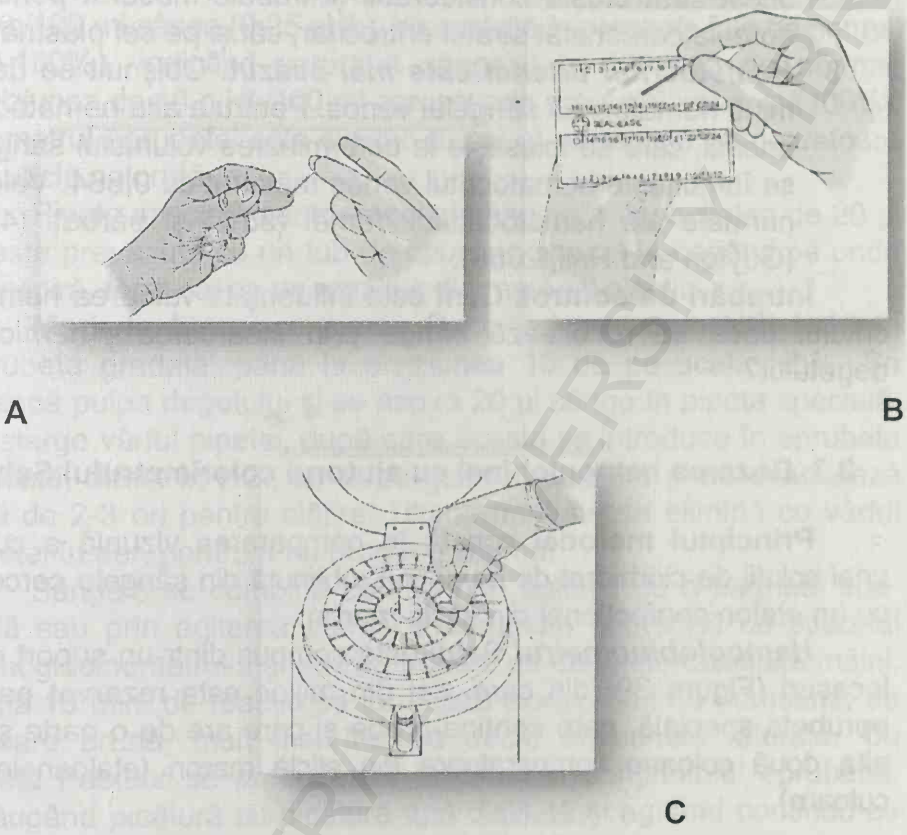


Figura 38. Etapele determinării microhematocritului

Calculul se va face după formula:

$$H\% = \frac{100xh}{H}$$

H= înălțimea totală a coloanei de sânge
h= înălțimea coloanei de hematii

La valoarea obținută se fac următoarele corecții:

1. ***Plasma interstițială***. Între hematii rămâne un spațiu cu plasmă interstițială reținută, ce reprezintă aprox. 4% din volumul eritrocitar total. Pentru scăderea acestui volum, se înmulțește valoarea hematocritului cu 0,96.
2. ***Stratul leucocitar-trombocitar***. În mod normal grosimea acestui strat este neglijabilă (sub 1%). În caz de leucocitoză

acest strat crește considerabil și trebuie măsurat pentru a aprecia corect atât stratul eritrocitar, cât și pe cel plasmatic.

3. ***Hematocritul arterial este mai scăzut.*** Obișnuit se determină hematocritul sângelui venos. Pentru a afla hematocritul arterial, care se folosește la determinarea volumului sanguin, se înmulțește hematocritul venos măsurat cu 0,864. Valorile normale ale hematocritului: femei (38%) şi bărbați (42%) (Guyton and Hall, 2006).

Întrebări de control: Cum este influenţată valoarea hematocritului dacă se recoltează sânge prin stoarcerea puternică a degetului?

3.3. Dozarea hemoglobinei cu ajutorul colorimetrului Sahli

Principiul metodei constă în compararea vizuală a culorii unei soluţii de clorhidrat de hematină, obţinută din sângele cercetat, cu un etalon confecţionat din sticlă maron.

Hemoglobinometrul Sahli este compus dintr-un suport cu 3 locaşuri (Figura 39) din care, cel din mijloc este rezervat pentru eprubeta specială, care conţine proba şi care are de o parte şi de alta două coloane comparatoare din sticlă maron (etaloanele de culoare).

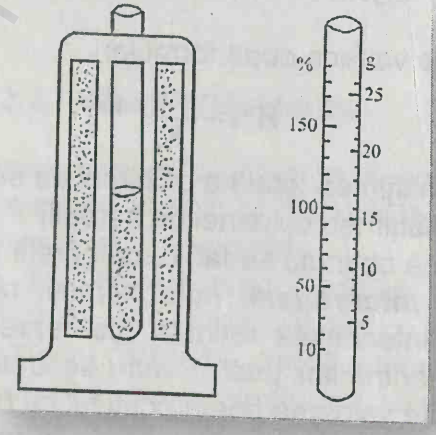


Figura 39. Hemoglobinometrul Sahli

Eprubeta de hemoglobină (Hb) are două gradaţii: una în g Hb/100 ml sânge (0-25 gHb), iar cealaltă în procente faţă de normal (10-160%), indicând saturaţia sângelui în Hb faţă de normal. Diviziunea de 16 g Hb/100 ml corespunde saturaţiei normale (100%). Diametrul eprubetei este similar cu cel al coloanelor comparatoare din sticlă colorată.

Pipeta specială pentru recoltat sânge are capacitatea de 20 µl şi este prevăzută cu un tub de cauciuc, anexat la capătul pe unde se aspiră, terminat cu un muştiuc din material plastic.

Mod de lucru: cu pipeta Pasteur introducem HCl N/10 în eprubeta gradată, până la diviziunea 10 de pe scala Hb%. Se înţeapă pulpa degetului şi se aspiră 20 µl sânge în pipeta specială, se şterge vârful pipetei, după care acesta se introduce în eprubeta gradată, direct în HCl, iar după golire, se aspiră şi se evacuează HCl de 2-3 ori pentru clătire. Ultima porţiune se elimină cu vârful pipetei în aer, pentru a nu produce spumă.

Sângele se combină cu HCl prin agitaţie cu o baghetă specială sau prin agitarea atentă a eprubetei împreună cu suportul hemoglobinometrului şi lovirea uşoară cu degetele celeilalte mâini. După 10 min. de reacţie se formează clorhidratul de hematină, de culoare brună, mult mai închisă decât etaloanele laterale. Cu pipeta Pasteur se procedează la diluarea conţinutului eprubetei, adăugând picătură cu picătură apă distilată şi agitând continuu cu bagheta specială, până la egalizarea culorilor.

Pentru evaluarea rezultatelor se citeşte la lumina zilei nr. de g Hb%, la meniscul inferior al lichidului din eprubetă, fiind recomandabil a se citi pe scala gradată în g/100 ml. Valorile fiziologice considerate normale pentru bărbaţi sunt cuprinse între 13,5 şi 17,5 g/100ml iar pentru femei între 12 şi 16 g/100ml (Fox, 2010).

Întrebări de control: Care este cantitatea de hemoglobină din sângele circulant?

3.4. Dozarea cantitativă a proteinelor serice refractometric

Principiu: La baza refractometriei se află capacitatea pe care o au diferite medii de a refracta razele de lumină care le străbat. O rază de lumină care trece dintr-un mediu în altul se refractă.

Raportul dintre sinusul unghiului de incidenţă şi sinusul unghiului de refracţie poartă denumirea de ***indice de refracţie***. Indicele de refracţie depinde de cantitatea, mărimea şi starea fizică a particulelor dizolvate, cât şi de temperatura mediului.

În lichidele biologice, mărimea indicelui de refracţie depinde de cantitatea de proteine. Sărurile şi alţi constituenţi sanguini au rol mai puţin important.

Material necesar: ser sau plasmă sanguină, refractometru.

Se utilizează diferite tipuri de refractometre. Descriem mai jos refractometrulmanual HR-160, OptikaMicroscopes, Italia (Figura 40).

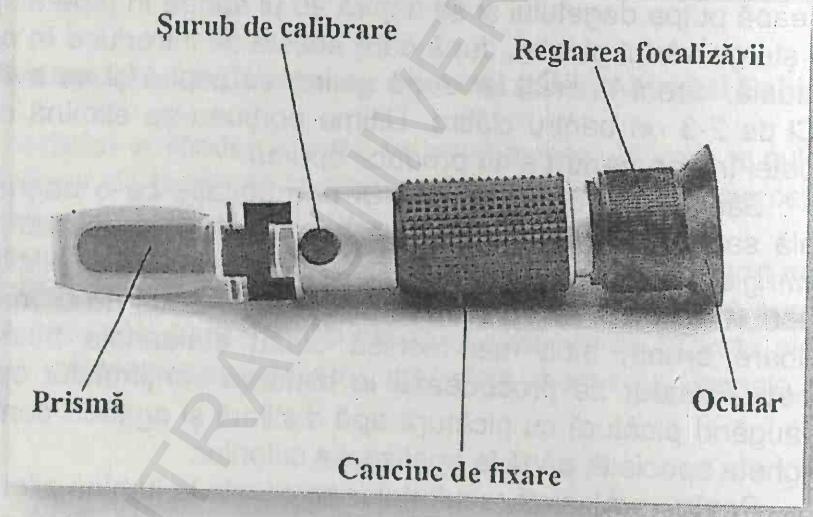


Figura 40. Refractometrul manual HR-160

Acest instrument este destinat pentru uz clinic, atât veterinar, cât și uman. El asigură o indicare rapidă și precisă a nivelelor proteinelor și a densității urinei. Scala sa triplă citește concentrația de proteine serice (S.P.), indicele de refracție (ND) și greutatea urinară specifică (UG). Prezintă următoarele domenii de determinare: proteine serice 0-12g/dl, indicele de refracție 1,335-1,360 și greutatea specifică 1,000-1,050 sg.

Mod de lucru

Pasul 1: Plasarea lichidului pe prismă

Deschideți plăcuța protectoare, curățați prisma de refracție cu o cârpă moale și curată și așezați 2-3 picături de apă distilată sau lichid de calibrare pe prisma principală. Închideți plăcuța astfel încât lichidul să se împrăștie pe toată suprafața prismei fără a se forma bule de aer sau pete uscate. Se lasă proba pe prismă aproximativ 30 de secunde pentru a permite ajustarea la aceeași temperatură înainte de a efectua pasul următor.

Pasul 2: Focalizarea

Îndreptați plăcuța în direcția unei surse de lumină și priviți în ocular. Se va vedea un câmp circular cu o scală verticală gradată de-a lungul centrului câmpului vizual (se poate regla focalizarea pentru o vizualizare clară a gradațiilor). Porțiunea superioară a câmpului ar trebui să fie albastră, în timp ce porțiunea de jos ar trebui să fie albă.

Pasul 3: Setarea scalei la zero

Folosind apa distilată sau lichid de calibrare ca și probă, priviți în ocular și rotiți șurubul de calibrare până când limitele câmpului superior albastru și ale câmpului inferior alb se întâlnesc pe scala la zero. În acest moment s-a efectuat calibrarea. Asigurați-vă că temperatura camerei este potrivită pentru soluția pe care o folosiți. Când temperatura mediului (nu a probei) se modifică cu mai mult de 15°C se recomandă recalibrarea instrumentului pentru a menține prezicia și reproductibilitatea măsurătorilor.

Pasul 4: Testarea probelor

Îndepărtați lichidul de calibrare din prismă și repetați pasul 1 înlocuind apa/lichidul de calibrare cu proba de analizat. Apoi continuați cu pasul 2. După terminarea acestui pas concentrația poate fi citită direct.

3.5. Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH)

Sângele este o suspensie de celule într-un lichid vâscos, plasma. Numai mişcarea permanentă a lichidului menţine răspândirea uniformă a celulelor. Când circulaţia se opreşte, celulele încep să se depună. Dacă împiedicăm coagularea sângelui, sedi-

mentarea poate continua până când stratul superior de plasmă clară se separă de celulele care au căzut la fund.

Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) este dată de numărul de mm de plasmă clară, care se formează după una sau două ore în partea superioară a unei coloane verticale de sânge.

Pentru determinarea VSH-ului se foloseşte în mod curent ***metoda Westergreen***.

Material necesar: aparat Westergreen, citrat trisodic 3,8%, pipete, eprubete de hemoliză, seringă.

Aparatul Westergreen este format dintr-un suport de fixare a tuburilor şi din tuburi de sedimentare (Figura 41). Tuburile de sedimentare sunt lungi de aproximativ 30 cm şi perfect calibrate, diametrul interior este de 2,5-3 mm. Pe tub sunt imprimate diviziunile la distanţă de câte 1 mm, de la 0-200 mm. Diviziunea zero se găseşte în partea superioară a tubului.

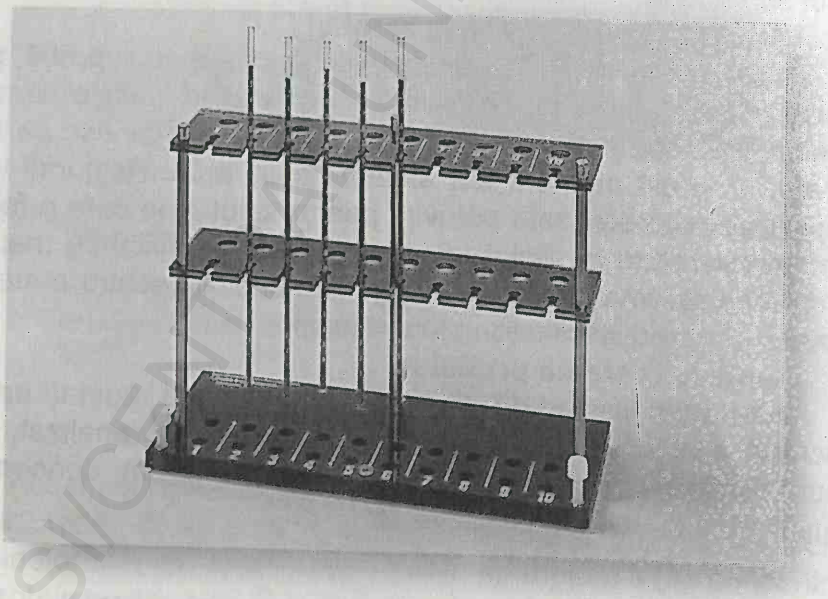


Figura 41. Aparat Westergreen

Mod de lucru: Cu o pipetă gradată de 1ml, se pune într-o eprubetă de hemoliză (sau o capsulă) 0,4 ml citrat de sodiu (folosirea oxalatului de sodiu dă viteze mai mari). Se scoate prin puncţie venoasă o cantitate de 2-3 ml sânge, care se pune într-o

eprubetă uscată. Se aspiră imediat 1,6 ml sânge şi se adaugă în eprubeta cu anticoagulant. Se amestecă prin înclinări lente de câteva ori. Se aspiră sângele în pipeta Westergreen până la diviziunea zero, după care se astupă cu arătătorul partea de sus, pentru a se opri pe loc coloana de sânge. Vârful pipetei se aplică pe dopul de cauciuc de la partea inferioară a stativului, iar capătul superior al pipetei se fixează în partea de sus a stativului. Pipeta trebuie să fie în poziţie perfect verticală. În tuburi înclinate viteza este mai mare. Determinarea se face la temperatura de 20°C. Citirea se face la una şi două ore.

Determinarea VSH-ului trebuie să se facă imediat după recoltare sau cel târziu după 2-3 ore. Conservarea sângelui micşorează viteza.

Valori normale

- bărbat: 3-10 mm la o oră; 5-15 mm la 2 ore
- femeie: 6-13 mm la o oră; 1-20 mm la 2 ore
- copii: 7-11 mm la o oră.

Interpretarea rezultatelor: Teoretic, VSH ar putea depinde atât de factorii plasmatici, cât şi de cei globulari. Astfel, greutatea specifică a plasmei în raport cu cea a globulelor ar putea constitui un factor care să ducă la modificarea VSH-ului.

O diminuare a vâscozităţii plasmei sau o mărire a volumului globulului ar putea determina creşterea VSH-ului.

Aglomerarea unor celule de volum normal poate produce acelaşi efect ca şi creşterea în dimensiune a fiecărei celule în parte. Acest ultim factor este cauza principală care duce la scăderea stabilităţii suspensiei sanguine în stările patologice. Agregarea globulelor se datorează în mare parte proporţiilor relative ale fracţiunilor fibrinogen, globulină şi albumină din plasmă. Astfel, predominanţa globulinelor plasmatice şi a fibrinogenului, care au molecule mai mari, determină creşterea VSH.

Acelaşi efect determină şi creşterea în sânge a unei glicoproteine (aglomerina) ce se adsoarbe la suprafaţa hematiilor. În cazul scăderii VSH, se adsorb la suprafaţa hematiilor îndeosebi albuminele, cu moleculă mai mică care le conferă în mediul alcalin al plasmei sarcini electrice negative. Cu toate că constituţia proteică a plasmei este de obicei singurul factor important care influenţează

VSH-ul, mulţi alţi factori pot exercita o oarecare influenţă asupra ei, ca de exemplu:

- ***temperatura***: creşterea temperaturii peste 20°C accelerează VSH şi invers;
- ***raportul lecitină/colesterol*** al plasmei, viteza fiind întârziată prin creşterea concentraţiei de lecitină şi accelerată de colesterol;
- ***concentraţia eritrocitelor***, creşterea numărului de hematii întârzie VSH-ul, iar scăderea o accelerează. De aceea fiziologic bărbatul are o VSH mai redusă.

3.6. Determinarea grupelor sangvine

Pe baza lucrărilor lui Landsteiner şi colaboratori, sângele diferitelor persoane poate fi clasificat în patru grupe principale, denumite 0, A, B, AB. La început aceste grupe au fost desemnate în aceeaşi ordine cu cifre romane I, II, III şi IV (după Janski).

Baza acestei clasificări constă în natura antigenică a eritrocitelor şi a anticorpilor din ser. Antigenii, denumiţi obişnuit ***aglutinogeni***, au fost desemnaţi cu majuscule: A şi B, iar anticorpii, numiţi ***aglutinine***, au fost desemnaţi **anti-A** sau **α** şi, respectiv,**anti-B** sau **β.** Funcţie de prezenţa sau absenţa aglutinogenelor pe hematii şi a aglutininelor în ser, rezultă apartenenţa sângelui la grupa respectivă. Unele caracteristici ale grupelor sunt redate în tabelul1:

Tabel 1. Caracteristicile grupelor sangvine

Grupa	Aglutinogen prezent în hematii	Aglutinină prezentă în ser	Frecvenţa grupei la europeni	Transfuzii	
				Primeşte de la grupa	Donează grupei
0I	-	α,β	45%	0	0,A,B, AB
AII	A	β	42%	0,A	A, AB
BIII	B	α	10%	0,B	B,AB
ABIV	AB	-	3%	0,A,B,AB	AB

Determinarea grupei sanguine se face pe baza reacţiei de aglutinare a hematiilor, care apare ori de câte ori A se întâlneşte cu α şi B se întâlneşte cu β (Figura 42). Natura acestei reacţii este similară cu aceea dintre antigen şi anticorpul corespunzător.

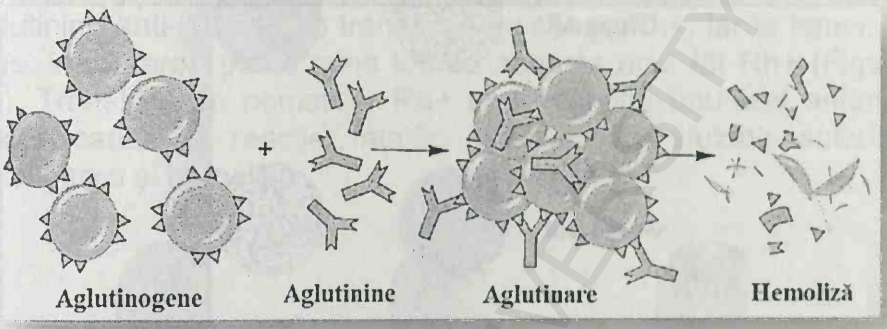


Figura 42. Reacția de aglutinare

3.6.1. Determinarea aglutinogenelor

Material necesar: ser hemotest grupa A și B; lame de microscop; seringi; material de dezinfectat pulpa degetului.

Mod de lucru: Pe o lamă de microscop se pune succesiv, cu seringi diferite, câte o picătură mare de ser hemotest din grupa A și B, în ordinea indicată în Figura 43. Cu un colţ de lamă se ia din pulpa degetului o cantitate de sânge cam de 10 ori mai mică decât picătura de ser hemotest şi se amestecă bine. Picăturile de sânge pentru celelalte seruri hemotest se iau cu colţuri diferite ale lamelei (pentru a nu amesteca serurile între ele). Citirea se face după 2-5 minute cu ochiul liber, sau cel mult o lupă, punând lame pe un fond alb şi imprimându-i o uşoară mişcare de rotaţie. În cazul aglutinării, hematiile se îngrămădesc apărând pe fondul clar al lichidului, ca grăunţele de piper. Dacă aglutinarea nu se produce, lichidul rămâne uniform roz. Dacă hematiile nu aglutinează cu nici unul din serurile hemotest, sângele aparţine grupei zero. Reacţia hematiilor aparţinând celorlalte grupe este indicată în Figura 43.

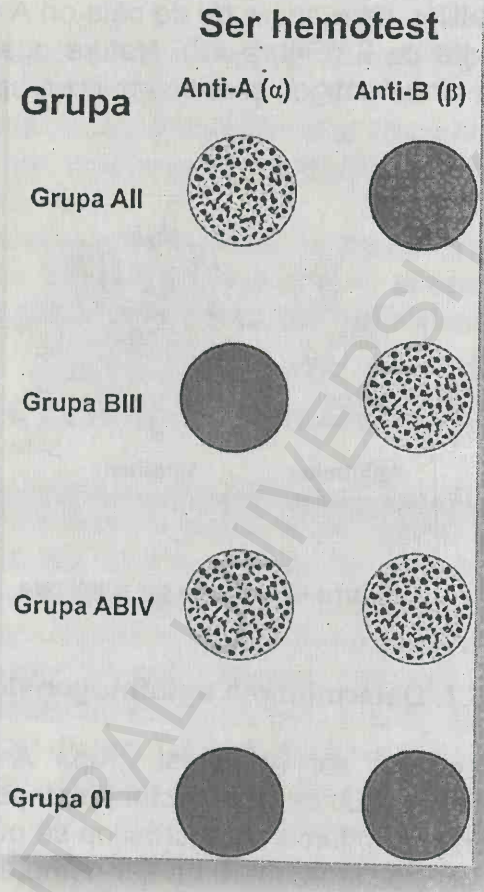


Figura 43. Determinarea aglutinogenelor

3.7. Determinarea factorului Rh0 (D)

Factorul (aglutinogenul) Rh a fost descoperit deLandsteiner şi Wiener în 1940 şi prezintănumeroase aplicații clinice. Acest antigen a fost descoperit în mod accidental ca urmare a injectării cu eritrocite provenite de la maimuța *Rhesus* a unor animale de laborator (cobai). Ulterior s-a constat că anticorpii formați în urma imunizării cobailor produc reacții de aglutinare atât cu eritrocitele provenite de la maimuța *Rhesus*, cât și cu eritrocite provenite de la

om. Astăzi, se cunosc mai mulţi antigeni Rh (R1, D, Rh_0). Primul antigen cunoscut este denumit D sau Rh_0 iar anticorpul său se numeşte anti-D. Antigenul D este cel mai puternic.

El este prezent în sângele a 83-86% din indivizii de rasă albă, numiţi din această cauză ***Rh pozitivi*** (Rh+). Restul de 14-17% sunt numiţi *Rh negativi* (Rh-). În sângele indivizilor Rh- apare aglutinina anti-Rh după o transfuzie cu sânge Rh+, iar la femei, în plus, imunizarea poate avea loc cu sângele unui făt Rh+ (Figura 44). Transfuzarea hematiilor Rh+ unui receptor imunizat anterior poate cauza o reacţie fatală, globulele transfuzate suferind aglutinarea şi hemoliza.

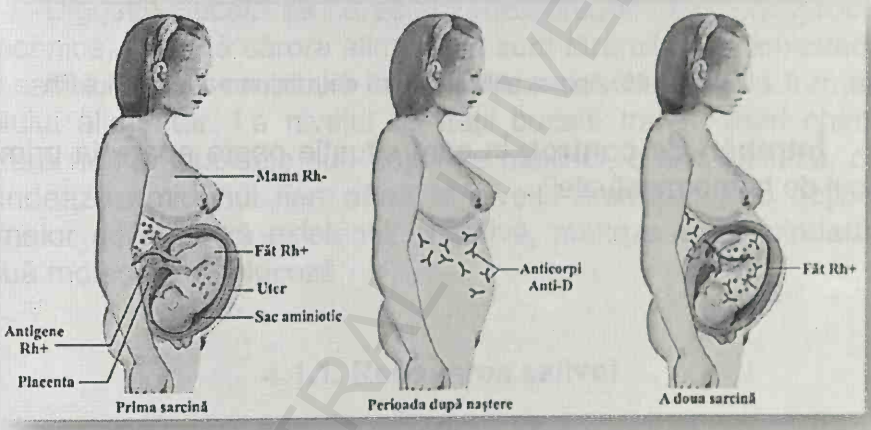


Figura 44. Factorul Rh și sarcina

Material necesar: Ser anti-Rh_0; lame de microscop; seringi; material de dezinfectat pulpa degetului.

Mod de lucru: Pe o lamă se pune o picătură mare de ser anti -Rh_0 care se amestecă cu o picătură de sânge recoltată din pulpa degetului. Se plasează lama pe o placă încălzită la 45°C (Figura 45). Se agită uşor timp de două minute. Dacă se produce reacția de aglutinare sângele este Rh+. În lipsa aglutinării sângele este Rh-.

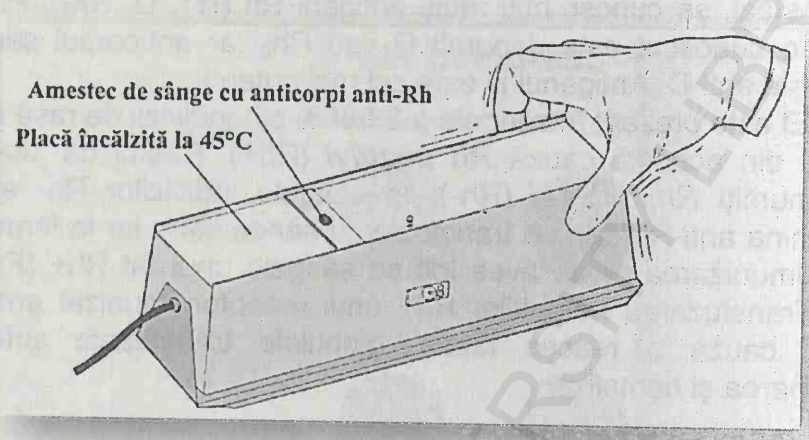


Figura 45. Aparat utilizat pentru determinarea factorului Rh

Întrebări de control: În care situație poate apare la primitor șocul de hemotransfuzie?

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CAPITOLUL 4

FUNCȚIILE DE NUTRIȚIE

4.1. Digestia în cavitatea bucală

Digestia bucală se caracterizează predominant prin procese mecanice, datorită cărora alimentele sunt fărâmiţate şi amestecate cu salivă. Saliva contribuie la facilitarea masticaţiei şi la formarea bolului alimentar. La nivelul cavităţii bucale transformări chimice suferă numai glucidele sub acţiunea ptialinei, o alfa amilază, care scindează amidonul fiert până la nivelul maltozei. Sub acţiunea urmelor de maltază existentă în salivă, maltoza este scindată în două molecule de glucoză.

4.1.1. Recoltarea salivei

La animalele de experienţă recoltarea salivei se realizează prin metoda fistulelor salivare acute sau cronice. În procedeul fistulelor salivare acute, recoltarea se face prin introducerea unui cateter în canalul excretor al uneia din glandele salivare ale animalului anesteziat şi excitarea nervului excretor corespunzător.

În cazul folosirii fistulelor salivare cronice, recoltarea se face pe animalul în stare de veghe, căruia în prealabil i s-a exteriorizat orificiul canalului excretor al glandei submandibulare sau parotide.

La om recoltarea salivei secretate de glandele submandibulare sau parotide se face cu ajutorul capsulei Krasnogorski, care se fixează în cavitatea bucală, la nivelul de vărsare a canalelor excretoare ale glandelor, prin aspirarea aerului din capsulă cu ajutorul unei pere de cauciuc.În experienţele de laborator se foloseşte saliva mixtă, a cărei secreţie se va mări prin introducerea unei bucăţi de parafină în cavitatea bucală, după clătirea prealabilă

a gurii cu apă de robinet, pentru îndepărtarea eventualelor resturi alimentare. Saliva colectată se filtrează prin câteva straturi de tifon. Se poate dilua cu apă distilată în proporţie de 1 ml la 50 ml apă. Acesta va fi preparatul enzimatic, care va fi folosit pentru studiul rolului salivei în digestie.

4.1.2. Compoziţia chimică a salivei

Compoziţia salivei este variabilă, depinzând de rata de secreţie. În medie saliva mixtă, secretată de totalitatea glandelor Salivare, conţine aproximativ 99,4% apă şi 0,6% substanţe solide, din care 0,2% substanţe anorganice şi 0,4% substanţe organice, inclusiv celule (epitelii, leucocite).

Substanţele minerale sunt cele găsite în mod obişnuit şi în plasmă.

Clorurile din salivă au rolîn activarea ptialinei. ***Bicarbonaţii, fosfaţii alături de mucină*** acţionează ca sisteme tampon, pH-ul salivei fiind destul de constant = 6,0-7,0 cu oscilaţii extreme 5,75-7,05. ***Carbonaţul şi fosfatul de calciu***, solubili la un pH acid, pot să precipite în interiorul canalelor salivare, sub formă de calculi salivari, atunci când saliva devine alcalină. În prezenţa unei salive bogate în mucină se pot depune sub formă de tartru dentar.

Sulfocianura de potasiu sau rodanatul de K se găseşte totdeauna în salivă. Producerea şi eliminarea lui, care constituie un factor antimicrobian, ar întreţine asepsia gurii şi ar reprezenta un mecanism de dezintoxificare a organismului de cianuri. La fumători se găseşte în cantitate de aproximativ 10 ori mai mare.

Substanţele organice sunt reprezentate de ***mucină***, cu rol important în formarea bolului alimentar şi în protejarea întregului tract digestiv; ***amilaza salivară*** (ptialina) cu rol în scindarea amidonului; ***lizozimul*** – o enzimă bactericidă, care se secretă cu mucusul, având o acţiune litică asupra stafilococilor, streptococilor şi meningococilor şi a altor organisme. La 80% dintre subiecţii umani saliva conţine anticorpi (IgA).

Kalicreina acţionează asupra unor proteine din plasmă, dând naştere bradikininei, un peptid vasodilatator.

Din substanţele azotate neproteice, saliva conţine: uree, acid uric, creatina, creatinina, aminoacizi. În mod normal glucoza este absentă din salivă, iar alcoolul se găseşte în aceeaşi concentraţie ca în salivă.

Prin salivă se pot elimina unele substanţe toxice: Pb, Hg, Bi, I, Cu.

4.1.3. Evidenţierea substanţelor anorganice

Material necesar: HCl 5%; HCl 10%; $FeCl_3$ 3%; HNO_3 concentrat, $AgNO_3$ 5%; molibdat de amoniu; acid acetic, pipete, eprubete.

1. ***Evidenţierea sulfocianaţilor***: Se iau într-o eprubetă 2-3 ml de salivă, se acidifică cu 3-4 picăturiHCl 5%, peste care se toarnă 1-2 picături clorură ferică 3%. Apare o coloraţie roşie, caracteristică rodanatului feric în jurul filamentelor de mucină.

2. ***Evidenţierea clorurilor***: Se pun într-o eprubetă 1-2 ml salivă, se tratează cu câteva picături de HNO_3 concentrat, se încălzeşte, după care se adaugă câteva picături de $AgNO_3$. Se obţine un precipitat alb lăptos de AgCl.

3. ***Evidenţierea sulfaţilor***: Se iau într-o eprubetă 1-2 ml salivă fiartă, se adaugă 2-3 picături de HCl 10% şi câteva picături de $BaCl_2$ 5%. Apare un precipitat alb de sulfat de bariu.

4. ***Evidenţierea fosfaţilor***: Se iau într-o eprubetă 1-2 ml salivă fiartă şi se acidulează cu HNO_3, concentrat. Se adaugă molibdat de amoniu în exces şi se încălzeşte la flacără până la fierbere. După răcire se observă apariţia unor cristale galbene de fosfomolibdat amoniu.

5. ***Evidenţiareabicarbonaţilor***: Într-o eprubetă se pun 1-2 ml salivă, peste care se adaugă 1-2 picături acid acetic. Se observă apariţia unor bule gazoase de CO_2.

4.1.4. Evidenţierea substanţelor organice

Material necesar: HNO_3 concentrat; NaOH 20%; acid acetic 20%; reactiv Fehling I şi II.

1. ***Evidenţierea mucinei***: Se iau într-o eprubetă 2-5 ml salivă, peste care se adaugă 7-4 picături acid acetic 20%. Se constată apariţia unui precipitat filamentos caracteristic mucinei.

2. ***Evidenţierea proteinelor. Reacţia xantoproteică***: 1ml salivă peste care se adaugă câteva picături de HNO_3 concentrat. Se fierbe, obţinându-se o culoare galbenă. Se răceşte bine la curent de apă, după care se adaugă 1 ml NaOH 20%, obţinându-se coloraţia portocalie. Reacţia este datorită prezenţei nucleului benzenic (fenilalanina, tirozina şi triptofanul).

4.1.5. Rolul salivei în digestie

Rolul digestiv al salivei se datorează cu precădere amilazei salivare (ptialina). Acţiunea ei se exercită asupra amidonului fiert sau copt, precum şi asupra glicogenului. Nu descompune celuloza. pH-ul optim de activitate este în jur de 6,8, dar acţiunea amilazei se continuă şi în stomac, aproximativ ½ oră, până la acidifierea bolului în contact cu acidul clorhidric gastric.

Scindarea amidonului are loc prin etape intermediare de dextrine: amidon fiert → amilodextrine → eritrodextrine → acrodextrine, care se scindează în maltoză şi izomaltoză. Stadiul final de scindare a amidonului sub acţiunea ptialinei este maltoza şi izomaltoza. Datorită prezenţei urmelor de maltază în salivă, pot apare în stadiul final şi urme de glucoză.

Recunoaşterea produşilor intermediari de degradare a amidonului se face prin urmărirea reacţiei de colorare, pe care aceştia le dau cu soluţia Lugol: coloraţia albastră – amidonul şiamilodextrinele; roşu – eritrodextrinele, iar acrodextrinele rămân incolore.

Recunoaşterea maltozei, dizaharid reducător, se face prin reacţia Fehling. În acest scop se amestecă volume egale de Fehling I şi II, care se încălzesc uşor, după care se toarnă peste substanţa reducătoare şi se fierbe. Apare un precipitat roşu-cărămiziu.

Amestecul soluţiilor Fehling I şi II duce la formarea de hidroxid cupric, care, sub acţiunea reducătoare a zaharurilor, este transformat în oxid cupros (Cu_2O), compus care se depune sub forma unui precipitat roşu-cărămiziu.

4.1.6.Determinarea concentraţiei amilazei salivare

Material necesar: IK 2% + cristale de I; amidon fiert 1%; NaCl 1%; tampon fosfat pH 6,8 (27,6 g $NaH_2PO_4 \bullet H_2O$ se solvă în 1000 ml. Se obţine o soluţie 0,2 M; 28,39 g NaH_2PO_4 sau 53,62 g $NaH_2PO_4 \bullet 7\ H_2O$ se solvă în 1000 ml. Se obţine o soluţie 0,2 M. Se iau 51 ml soluţie A şi 49 ml soluţie B); acid citric 0,1 M; saliva diluată de 50 ori.

Mod de lucru: Se ia o serie de 10 eprubete şi se pipetează în fiecare câte 2 ml de soluţie uşor gălbuie de iod (IK 2% cu suficiente cristale de iod, care să obţină o coloraţie gălbuie). Aceste eprubete vor servi drept indicator al reacţiei.

Într-o eprubetă punem 5 ml amidon fiert 1% (substrat); 2 ml NaCl 1%; 2 ml tampon fosfat pH 6,8. Introducem eprubetele în baie de apă la 38^0C. După ce conţinutul eprubetei a atins temperatura băii, se adaugă în eprubetă 1 ml de salivă diluată (enzima), se amestecă şi se notează timpul de adăugare. După aceasta, la intervale de câte un minut, se scot câte 2 picături de conţinut, pe care le introducem într-un tub indicator. Se va înregistra timpul când nu se mai modifică culoarea indicatorului (punctul acromatic). Obişnuit la concentraţia optimă, punctul acromatic se obţine în 5-10 minute.

Cantitatea de enzimă din salivă se exprimă în unităţi de amilază, care este definită ca fiind cantitatea de amilază necesară pentru a digera 5 ml amidon 1% până la un punct acromatic în 10 minute. Numărul de unităţi de amilază dintr-un mililitru de salivă testată este egal cu 50 (diluţia folosită) x 10 împărţit la numărul de minute până la punct acromatic. Valori normale: 100 – 150 unităţi.

Întrebări de control: Ce rol au diferiţii constituenţi ai salivei? Cum se reglează secreţia salivară?

4.2. Compoziţia şi acţiunea digestivă a sucului gastric

Sucul gastric este un lichid incolor, limpede, acid, fără miros. Cantitatea secretată este variabilă, fiind influenţată de cantitatea şi natura alimentaţiei.

Densitatea variază între 1,002 şi 1,009, iar pH-ul între 0,92 şi 2,2. În compoziţia sucului gastric intră substanţe minerale: HCl,

cloruri de sodiu, potasiu, amoniu, fosfaţi de calciu şi magneziu, sulfocianuri, precum şi substanţe organice: enzime (pepsina, labfermentul (renina gastrică), lipaza gastrică, lizozim), mucină, factorul intrinsec a lui Castle).

4.2.1. Obţinerea sucului gastric

La animalele de experienţă, sucul gastric se poate obţine prin metoda fistulelor gastrice, metoda prânzului fictiv şi metoda micului stomac a lui Pavlov.

La om, recoltarea se face prin metoda tubajului gastric care constă în introducerea unei sonde de cauciuc în stomac, aspirarea conţinutului existent în acesta, administrarea unui prânz de probă sau de substanţe care stimulează secreţia gastrică şi apoi analiza cantitativă şi calitativă, prin aspirarea sucului secretat la anumite intervale de timp.

Procedeele de stimulare a secreţiei gastrice sunt foarte numeroase, mai fundamentate din punct de vedere fiziologic sunt probele farmacologice, folosindu-se agenţi care stimulează fie direct masa celulelor secretoare (gastrina, histamina), fie indirect, prin intermediul nervului vag (insulina).

În laborator, sucul gastric se poate prepara din mucoasa stomacală de porc. În acest scop, se ia un stomac de porc şi după ce se spală de conţinutul gastric, se scoate mucoasa, se taie în bucăţi mici, se triturează în mojar cu sticlă pisată, se pune în 2000 ml HCl 0,4% şi se lasă 24h să se macereze. Se filtrează prin tifon de mai multe ori, până se obţine un filtrat destul de clar. Acesta poate fi folosit ca suc gastric artificial.

Se mai poate obţine suc gastric artificial solvind 4g pepsină în 1000 ml HCl 0,4%.

4.2.2. Dozarea acidităţii sucului gastric

Aciditatea sucului gastric este compusă din:

- ***Aciditatea liberă*** dată de HCl liber

- ***Aciditatea combinată*** dată de HCl şi alţi acizi legaţi de diferite substanţe din conţinutul stomacal, în special aminoacizi şi proteine.
- ***Aciditatea totală*** reprezintă suma acidităţii libere şi a celei combinate.

Aciditatea liberă se determină prin titrare cu NaOH N/10 în prezenţa dimetilaminoazobenzolului (reactiv Töpfer), iar aciditatea totală în prezenţa fenolftaleinei ca indicator.

Material necesar: biuretă, pahare Erlenmeyer, pipete, suc gastric, indicator Linossier: 0,25g dimetilaminoazobenzol, 1g fenolftaleină şi alcool adus la 100ml; NaOH N/10.

Mod de lucru: Într-un pahar Erlenmeyer se pipetează 5 ml suc gastric şi se adaugă 2 picături de indicatori Linossier. Dacă sucul gastric conţine HCl liber, apare o coloraţie roz datorită dimetilaminoazobenzolului. Se titrează cu NaOH N/10 până când culoarea soluţiei virează în galben portocaliu.

Se notează cu A numărul de ml NaOH întrebuinţaţi. Se continuă titrarea cu NaOH până când culoarea vizează în roz (virajul fenolftaleinei).

Se notează cu B numărul de ml NaOH N/10 necesari pentru obţinerea acestui viraj.

Calculul şi exprimarea rezultatelor: numărul de ml NaOH N/10 titraţi până la virajul în galben portocaliu (A ml) serveşte pentru calculul acidităţii libere, iar numărul de ml NaOH N/10 adăugat până la virajul final (A+B ml) serveşte pentru calculul acidităţii totale. B reprezintă aciditatea combinată.

Concentraţiile de acid se exprimă sub formă de unităţi clinice Jaworski sau mEq/l. Unităţile clinice reprezintă numărul de ml NaOH N/10 necesari pentru neutralizarea acidităţii în 100 ml suc gastric. Înmulţind numărul de ml NaOH necesari pentru neutralizarea acidităţii din 5 ml suc gastric cu 20 se obţine rezultatul în unităţi clinice. Astfel:

Ax20 – aciditatea liberă în unităţi clinice

Bx20 – aciditatea combinată în unităţi clinice

(A+B)x20 – aciditatea totală în unităţi clinice

Deoarece numărul de ml NaOH N/10 necesari pentru neutralizarea acidităţii din 100 ml de suc gastric, este egal cu numărul de ml NaOH 1N, necesari pentru neutralizarea acidităţii din 1000 ml

suc gastric, unităţile clinice corespund cu mEq/l (1 unitate clinică = 1 mEq/l).

În unele laboratoare se mai utilizează exprimarea acidităţii sub formă de gHCl/1000 ml. Deoarece 1 mEq de HCl este egal cu 0,0365g, transformarea unităţilor clinice (mEq/l) în gHCl, se face înmulţindu-se valoarea în unităţi clinice cu factorul 0,0365.

Valorile normale ale acidităţii gastrice variază funcţie de absenţa sau prezenţa stimulării gastrice, precum şi de tipul de stimul folosit. Secreţia bazală prezintă o aciditate liberă cuprinsă între 0-30 mEq/l, iar aciditatea totală - 10-50 mEq/l. Prin stimulare cu histamină concentraţiile acidităţii libere ajung la valori de 50-120 mEq/1 iar aciditatea totală - 60-140 mEq/1.

Rolul acidului gastric în digestie: transformă pepsinogenul în pepsină; creează pH-ul optim de acţiune a enzimelor gastrice; se combină cu substanţe proteice, formând acid albumine, care pot fi atacate ulterior de pepsină; solvă colagenul; precipită cazeinogenul din lapte; împiedică fermentaţia şi putrefacţia; exercită o acţiune antiseptică şi provoacă la nivelul duodenului secreţia secretinei.

4.2.3. Rolul pepsinei în digestie

Pepsina este enzima de bază a sucului gastric. Este secretată sub formă inactivă – de pepsinogen– cu greutate moleculară de 42.500 care în prezenţa HCl, la un pH sub 6, se transformă în formă activă de pepsină ca greutate moleculară de 55.000. În prezenţa unor cantităţi mici de pepsină activă, autocatalitic se activează întregul pepsinogen.Pepsina este o enzimă proteolitică cu activitatea optimă la pH 2. La pH 5 activitatea pepsinei încetează. Ea scindează proteinele, care au fost solubilizate sub formă de acid albumine, până la stadiul de proteoze şi peptone.

Există şi alte câteva tipuri de pepsine, secretate în cantitate mai redusă, ca de exemplu gastricsina sau pepsina I. Activitatea ei este de aproximativ 1/4 din cea a pepsinei de bază, numită şi pepsina II şi are un optim de activitate la pH 3.

Material necesar: HCl 2‰; HCl concentrat; soluţie pepsină; fibrina; baie de apă; eprubete; pipete; stativ eprubete; termometru baie.

4.2.4. Necesitatea prezenţei HCl pentru acţiunea pepsinei

Mod de lucru: Se iau trei eprubete. În prima eprubetă pipetăm 2ml apă, în cea de a doua – 2ml HCl 2‰, iar în eprubeta a treia – 2ml HCl 2 ‰ şi 6 picături de pepsină. Adăugăm în fiecare eprubetă câte un fragment de fibrină (substrat). Cele trei eprubete astfel pregătite se pun la baie de apă (38-40°C) timp de 3 ore.

Se va constata că pepsina îşi exercită acţiunea digestivă, numai în prezenţa HCl.

4.2.5. Influenţa pH-ului asupra activităţii pepsinei

Mod de lucru: Se iau trei eprubete. În eprubeta 1 se pun 0,5 ml HCl 2 ‰; I,5 ml apă; 6 picături pepsină; fibrină. În eprubeta 2 se pun 2 ml HCl2‰; 6 picături pepsină; fibrină. În eprubeta 3: 1,8 ml HC1 2‰; 2 picături HCl concentrat; 6 picături pepsină; fibrină.

Eprubetele se pun la baie de apă (33-40°C) pentru 3 ore, după care, pe baza aspectului fibrinei sau a soluţiei din eprubete, se trag concluzii cu privire la gradul de digestie care a avut loc şi importanţa pH-ului în acest proces.

4.2.6. Evidenţierea produşilor de digestie pepsică

Material necesar:stativ cu eprubete; pâlnii mici; hârtie de filtru; hârtie de turnesol; suc gastric cu produşi de degradare a substanţelor proteice; soluţie NaOH 1%; sulfat de amoniu cristalizat; NaOH 20%; $CuSO_4$ 1%; alcool.

Mod de lucru

Precipitarea acid albuminelor. Se iau într-o eprubetă 10 ml suc gastric cu produşi de digestie pepsică, peste care se adaugă picătură cu picătură NaOH 1% până la neutralizare (în prezenţa hârtiei de turnesol). Apare o uşoară tulbureală, datorită precipitării acid albuminelor, care prin lăsarea eprubetei în repaus devine mai intensă. Dacă se adaugă NaOH în exces, se împiedică obţinerea precipitatului de acid albumine, deoarece acestea în mediu alcalin se transformă în alcalalbumine, solubile în mediu alcalin Se filtrează şi se păstrează filtratul. Precipitatul de pe filtru se solvă cu

câteva picături de NaOH şi 2-3 ml apă distilată. În soluţia astfel obţinută se face reacţia biuretului (3ml NaOH 20% + 3-4 picături $CuSO_4$ 1% + câteva picături de conţinut de analizat. Se agită. Apare o culoare albastru-violet, datorită prezenţei acid albuminelor.

Precipitarea albumozelor. Peste filtratul obţinut în experienţa anterioară, se adaugă sulfat de amoniu cristale până la saturare. Se formează un precipitat de albumoze. Se filtrează. Precipitatul obţinut pe hârtia de filtru se dizolvă în apă distilată şi în produsul obţinut se face reacţia biuretului, care este pozitivă (coloraţia violet-roşiatică).

Întrebări de control: Care este compoziţia chimică a sucului gastric? Ce rol îndeplinesc componenţii sucului gastric? Ce transformări chimice suferă alimentele în stomac?

4.3. Bila şi rolul ei

Bila nu este un suc digestiv în adevăratul sens al cuvântului deoarece nu conţine enzime. La organismele la care prezintă o veziculă biliară deosebim o ***bilă hepatică***şi o ***bilă veziculară.***

La om bila hepatică este galben-aurie clară, aproape izotonică. Are un pH între 8-8,6.

Bila veziculară este de culoare verde-brună, tulbure din cauza resturilor epiteliale şi a săririlor de calciu şi filantă din cauza mucinei. pH-ul bilei veziculare este cuprins între 7-7,6. La nivelul veziculei biliare, datorită reabsorbţiei apei, are loc o concentrare a substanţelor de 6-10 ori. Constituenţii principali ai bilei sunt: ***sărurile biliare*** (glicocolatul şi taurocolatul de sodiu), ***pigmenții biliari*** (bilirubina şi biliverdina), ***colesterolul***, ***leucina***, ***acizi graşi***, ***mucina***, ***bicarbonați***, ***fosfați***, ***cloruri de Na, K, Ca***.

Bila are rol în digestia şi absorbţia lipidelor, prin emulsionarea lor, activarea indirectă a lipazei pancreatice, intervine în absorbţia acizilor graşi şi a vitaminelor liposolubile (A,D,E,K) şi a unor metale ca Fe, Ca, Cu, care în lipsa bilei formează cu grăsimile săpunuri insolubile. Indirect bila mai are o funcţie antiputrifică şi laxativă. Ea contribuie şi la neutralizarea în intestin a sucului gastric acid.

Recoltarea bilei se face experimental prin fistulă coledocianăsau fistulă colecistică. La om recoltarea se face prin tubaj duodenal.

4.3.1. Evidențierea constituenților bilei

Material necesar: stativ cu eprubete; pipete; bilă diluată; acid acetic 10%; acid sulfuric concentrat; floare de sulf; acid azotic; tinctură de iod; cloroform; HCl concentrat; HNO_3concentrat; alcool; ulei vegetal.

Mod de lucru:

Mucina: Se pun într-o eprubetă 2-3 ml bilă diluată peste care se adaugă câteva picături de soluţie acid acetic. Apare un precipitat filamentos de mucină.

Sărurile biliare. Reacția Pettenkoffer. Se pun într-o eprubetă 3-4 ml bilă diluată peste care se adaugă câteva picături de zaharoză. Se introduc în eprubetă, prin prelingere pe marginile ei, 3-4 ml HSO_4 concentrat. Se formează un inel roşu, care agitat colorează toată eprubeta în roşu. Reacţia se datorează acidului colalic, ce se formează din acizi biliari și combinării acestuia cu furfurolul rezultat din zahăr.

ReacțiaHay. Se bazează pe proprietatea acizilor biliari de a coborî tensiunea superficială. Se iau într-o eprubetă 4-5 ml apă distilată, peste care se lasă să cadă floare de sulf. Aceasta rămâne la suprafaţă. Dacă se adaugă bila, floarea de sulf cade la fundul eprubetei. Produsele biologice, în care floarea de sulf cade la fundul eprubetei, conţin săruri biliare.

Pigmenții biliari. Reacția Gmelin. Rapiditatea cu care pigmenţii biliari se oxidează şi modificările de culoare care au loc cu această ocazie constituie baza reacţiei Gmelin pentru dovedirea prezenţei pigmenţilor biliari în lichidele biologice.

Se pun într-o eprubetă 2-3 ml bilă şi acid azotic, turnat pe marginea eprubetei. La nivelul de separare dintre cele 2 lichide, apar o serie de inele suprapuse colorate în verde, roşu, galben, albastru. Se datoresc produşilor de oxidare a bilirubinei în biliverdină. Ulterior, datorită oxidării complete, rămâne un singur inel de culoare verde. Această reacţie poate fi efectuată şi în alt mod: se pune pe hârtia de filtru o cantitate redusă de bilă şi lăsăm să cadă în mijloc 1-2 picături de acid azotic fumans. Pigmentul este oxidat şi apar o serie de inele concentrice de diferite culori, din centru spre periferie: galben - galben-roşiatic, violet şi albastru-verde.

Reacția Trousseau. Se pun într-o eprubetă 2-3 ml de bilă diluată peste care se adaugă prin prelingere tinctură de iod. La contactul dintre cele 2 lichide apare un inel verde, caracteristic biliverdinei.

Reacția Hammarsten. Se pun într-o eprubetă 1 ml reactiv Hammarsten (se prepară din volume egale de HCl+ HNO_3), se adăugă 4 ml alcool, apoi bilă. Se obţine un inel verde.

4.3.2. Acțiunea bilei asupra lipidelor

Emulsionarea lipidelor. Turnăm într-o eprubetă puţin ulei vegetal, peste care adăugăm un volum egal de bilă. Astupăm eprubeta şi o agităm. În urma agitării se formează un produs lăptos-emulsie de lipide. Se lasă eprubeta în stativ pentru 10-15 minute şi ne vom convinge că emulsia este stabilă, deoarece nu apare graniţa între straturi. Drept probă de control va servi o eprubetă în care în loc de bilă s-a turnat apă.

Influența bilei asupra filtrării lipidelor. În două pâlnii mici punem câte o hârtie de filtru. O hârtie o umectăm cu apă, iar cealaltă cu bilă. Punem pâlniile în câte o eprubetă şi turnăm în fiecare o cantitate redusă de ulei. Uleiul se va filtra destul de uşor prin filtrul umectat cu bilă în timp ce prin filtrul umectat cu apă, nu se filtrează aproape deloc.

Întrebări de control: Care este compoziția și rolul bilei? Cum se reglează secreția ei?

CAPITOLUL 5

FIZIOLOGIA INIMII ȘI A SISTEMULUI VASCULAR

5.1. Caracterizarea electrocardiogramei (EKG) normale

EKG (electrocardiograma) reprezintă înregistrarea activităţii electrice a inimii în cursul proceselor de depolarizare şi repolarizare a miocardului în timpul revoluţiei cardiace. Fiind expresie a depolarizării şi repolarizării membranelor fibrelor miocardice, ca urmare a genezei şi răspândirii procesului de excitaţie în miocard, EKG oferă indicaţii asupra naşterii şi conducerii excitaţiei în miocard şi nu asupra forţei de contracţie a inimii. EKG caracterizează două proprietăţi de bază ale muşchiului cardiac: excitabilitatea şi conductibilitatea.

Înregistrarea EKG se va face cu ajutorul electrocardiografului portabil **OMRON HGC 801**(Figura 46). Aparatul permite transferarea datelor memorate pe un computer prin intermediul unui cititor de carduri.

Funcţii: semnal sonor în timpul şi la sfârşitul măsurătorii; de închidere automată după aproximativ 5 minute de neutilizare sau acţionând butonul de închidere timp de 2 secunde.

Realizarea unei măsurători:

1. Se acţionează butonul on/off pentru a deschide aparatul, apoi se poziţionează degetul arătător drept pe cei doi electrozi.
2. Se poziţionează electrodul de piept cu 5 cm mai jos de mamelonul stâng (în spaţiul 5 intercostal).
3. Se menţine poziţia și se acţionează butonul START.
4. Măsurătoarea se realizează în 30 de secunde.

BCU CLUJ UNIVERSITY LIBRARY

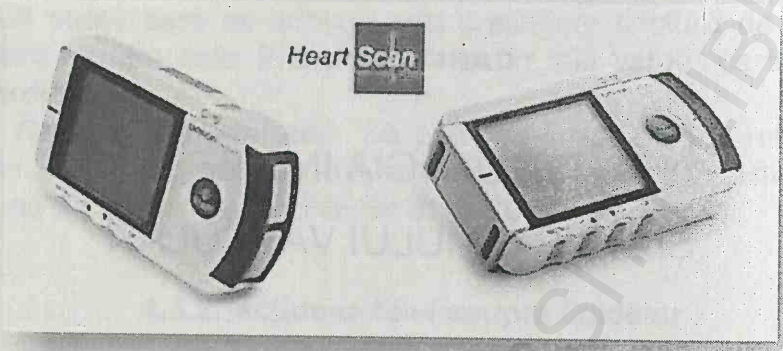


Figura 46. Electrocardiograful portabil OMRON HGC 801

Interpretarea automată a rezultatelor HCG - 801:

a. unda stabilă
b. ritm cardiac accelarat
c. ritm cardiac accelarat şi neregulat
d. ritm cardiac accelarat cu unda deformată
e. ritm cardiac accelarat şi neregulat cu unda deformată
f. ritm cardiac slab
g. ritm cardiac slab şi neregulat
h. ritm cardiac slab cu unda deformată
i. ritm cardiac slab şi neregulat cu unda deformată
j. ritm neregulat
k. ritm neregulat cu undă deformată
l. unda deviată
m. analiză imposibilă

Pe ecranul electrocardiografului apare traseul EKG normale (Figura 47), caracterizat prin **unde, intervale** şi **segmente.**

1. **Unde**: P, complexul QRS, T

Unda P indică depolarizarea atrială. Se caracterizează printr-o amplitudine de 0,1-0,3 mV şi o durată de 0,08 secunde. Ea precede cu 0,02 secunde sistola atrială. Este separată de complexul QRS printr-o linie izoelectrică numită segmentul P-R care reprezintă intervalul de timp necesar finalizării depolarizării atriale. Lungimea acestui segment este dată şi de timpul necesar

preluării undei de excitație de către nodulul Aschoff-Tawara, fasciculul Hiss și rețeaua Purkinje pe care o răspândește în miocardul subendocardic ventricular.

Complexul QRS indică depolarizarea ventriculară (0,06-0,1s).

Unda T indică repolarizarea ventriculară (0,08-0,1s).

2. **Segmente**: P-R, S-T.

Segmentul P-R indică depolarizarea uniformă atrială.

Segmentul S-T indică depolarizarea uniformă ventriculară.

3. **Intervale**: P-R, Q-T, S-T

Intervalul P-R indică sistola electrică atrială.

Intervalul Q-T indică sistola electrică ventriculară.

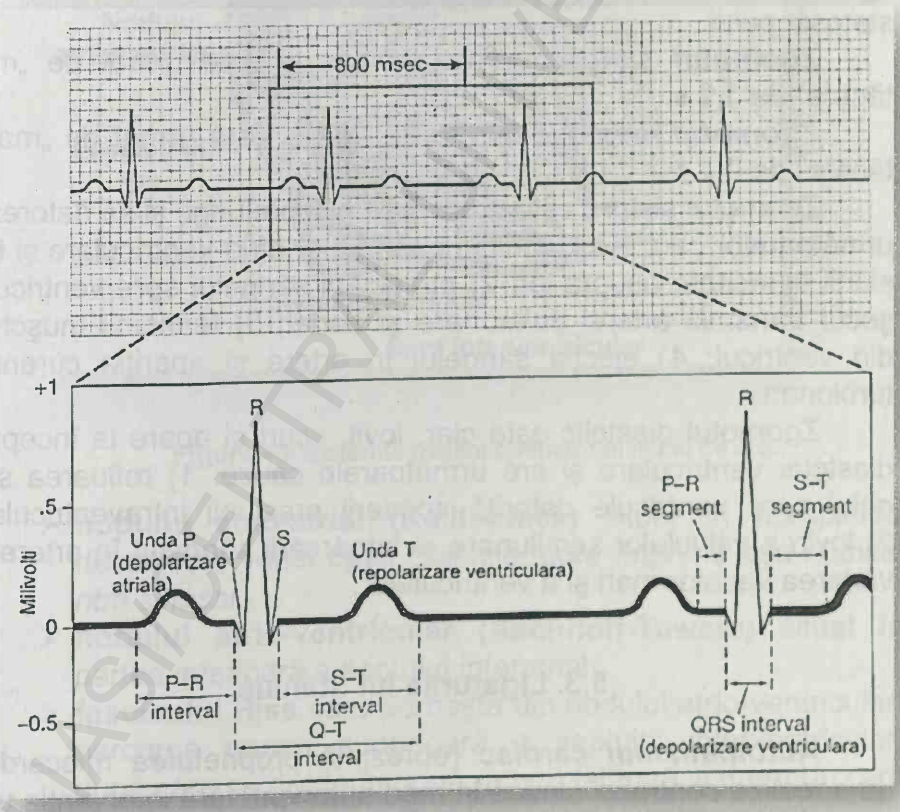


Figura 47. Caracterizarea EKG normale

În unele situaţii mai pot apărea ***undele Ta*** care se interpun între unda P şi complexul QRS, observată la sportivi şi la persoanele cu hipertensiune. În unele cazuri după unda T, mai apare şi ***unda U***, care indică o repolarizare ventriculară tardivă.

Întrebări de control: Ce proprietăţi ale muşchiului cardiac exprimă EKG? Care sunt componentele EKG?

5.2. Zgomotele cardiace

Se datorează activităţii mecanice a inimii. Se pot deosebi două tipuri de zgomote cardiace: sistolic şi diastolic. Ascultarea zgomotelor cardiace se face direct cu urechea sau cu ajutorul stetoscopului.

Zgomotul sistolic durează 0,14s şi este urmat de „mica tăcere" de 0,2 s.

Zgomotul diastolic durează 0,05s şi este urmat de „marea tăcere" de 0,4 s.

Zgomotul sistolic este grav, puternic, prelungit şi se datorează următoarelor cauze: 1) închiderii valvulelor atrio-ventriculare şi tensiunii exercitate asupra lor; 2) proiectării sângelui spre ventricul şi şocul transmis arterei pulmonare şi aortei; 3) tensiunii muşchilor din ventricul; 4) ejecţia sângelui în artere şi apariţia curenţilor turbionari.

Zgomotul diastolic este clar, lovit, scurt şi apare la începutul diastolei ventriculare şi are următoarele cauze: 1) refluarea sângelui spre ventricule datorită scăderii presiunii intraventriculare; 2) lovirea valvulelor semilunare şi întoarcerii sângelui în artere; 3) vibrarea vaselor mari şi a ventriculelor.

5.3. Ligaturile lui Stanius

Automatismul cardiac reprezintă proprietatea miocardului de a realiza contracţii ritmice în mod autonom, fără intervenţia unor factori reglatori extracardiaci. Această proprietatedă posibilitatea inimii să se contracte ritmic chiar şi atunci când au fost întrerupte total legăturile nervoase, vasculare şi fizice ale acestui organ cu corpul animalului.

Această proprietate a miocardului este rezultatul funcționării ***țesutului excitoconductor (SEC)*** al inimii (Figura 48). La mamifere, acesta este compus din celule miocardice aflate în stadiul embrionar al dezvoltării lor (celule P) care formează următoarele structuri bine delimitate morfologic și funcțional cu acțiune cardio-excitatoare:

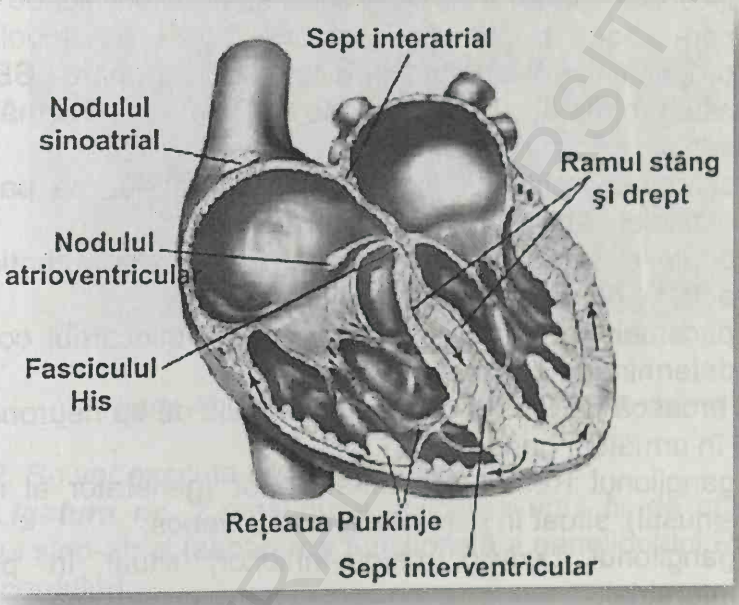


Figura 48. Sistemul excitoconductor al inimii de om

- **nodulul sino-atrial (Keilh-Flack)** situat în apropierea deschiderii venei cave craniale, care imprimă aşa-numitul *ritm sinusal*.
- **nodulul atrio-ventricular (Aschhoff-Tawara)** situat în partea inferioară a septului interatrial.
- **fasciculul Hiss** care porneşte din nodulul atrio-ventricular, parcurge partea superioară a septului interventricular, după care se divide în două ramuri (stângă şi dreaptă),care se continuă cu **reţeaua Purkinje** în masa miocardului.

Celulele care formează SEC au următoarele proprietăţi:

- potenţialul de repaus are valori cuprinse între -55 şi -60 mV (spre deosebire de fibrele miocardice contractile care menţin un potenţial de repaus cu valori între -85 şi -90 mV);
- membrana acestora are o permeabilitate crescută pentru Na^+ comparativ cu celelalte celule miocardice;
- incapacitatea de a-şi menţine constant potenţialul de repaus care scade treptat conform unei curbe de depolarizare proprie fiecărei structuri care concură la formarea SEC.

Aceste proprietăţi ale celulelor de tip P determină următoarele evenimente:

- scăderea treptată a potenţialului de repaus pe parcursul diastolei până la nivelul unui prag critic;
- odată cu atingerea acestui prag se iniţiază potenţialul de acţiune numit pacemaker potenţial;
- pacemakerul potenţial se propagă în miocardul contractil determinând contracţia acestuia;

La broască SEC este compus din celule de tip neuronal concentrate în următorii ganglioni:

- ganglionul Remak, cardio-excitator (generator al ritmului sinusal), situat în peretele sinusului venos;
- ganglionul Ludwig, cardio-inhibitor, situat în peretele interatrial;
- ganglionul Bidder cardio-excitator (generator al ritmului ventricular) situat în peretele atrioventricular.

Principiul lucrării practice:

Se aplică ligaturi în diferite zone ale inimii de broască in situ şi se urmăreşte efectul acestor ligaturi asupra funcţionării inimii.

Mod de lucru:

1. Se descoperă inima de broască prin vivisecţie (Figura 49) urmărindu-se cu atenţie modul de funcţionare a acesteia:

- sinusul venos se contractă în ritm sinusal
- atriile se contractă în ritm sinusal
- ventriculul se contractă în ritm sinusal

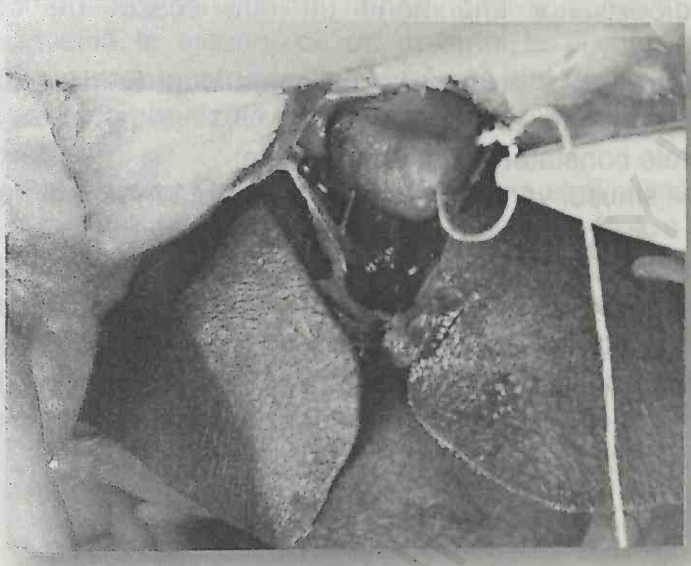


Figura 49. Evidențierea inimii de broască prin vivisecție

2. Se vor executa pe rând cele trei ligaturi:

Ligatura nr. 1 presupune aplicarea unui fir de aţă în jurul şanţului sino-atrial (separarea funcţională a ganglionului Remak de restul cordului).

Efectele constatate sunt următoarele:

- sinusul venos se contractă în ritm sinusal
- atriile și ventriculul nu se mai contractă

Concluzii: ganglionul Remak are efect cardioexcitator și exercită un rol dominant asupra celorlalți ganglioni.

Ligatura nr. 2 presupune aplicarea unui fir de ață în jurul șanțului sino-atrial și a altuia în jurul șanțului atrio-ventricular.

Efectele constatate sunt următoarele:

- sinusul venos se contractă în ritm sinusal
- atriile nu se mai contractă
- ventriculul se contractă într-un ritm scăzut (ritm ventricular)

Concluzii: ganglionul Ludwig are efect cardioinhibitor având o poziție dominantă față de ganglionul Bidder; ganglionul Bidder are

efect cardioexcitator imprimând un ritm scăzut de contracție miocardului.

Ligatura nr. 3 presupune aplicarea unui fir de ață în jurul șanțului atrio-ventricular.

Efectele constatate sunt următoarele:

- sinusul venos și atriile se contractă în ritm sinusal
- ventriculul se contractă în ritm ventricular.

Concluzii generale: ganglionul Remak are efect cardioexcitator și imprimă ritmul sinusal având o poziție dominantă față de ceilalți doi ganglioni ai SEC la broască; ganglionul Ludwig este cardioinhibitor și are o poziție dominantă față de ganglionul Bidder; ganglionul Bidder este cardioexcitator şi imprimă ritmul ventricular.

5.4. Presiunea arterială la om

Sângele se găsește în artere sub presiune, determinată de o serie de factori: 1) acțiunea de pompă a inimii; 2) rezistența periferică; 3) cantitatea de sânge în sistemul arterial; 4) vâscozitatea sângelui și 5) elasticitatea pereților arteriali.

Presiunea sangvină constituie un indicator fin al stării generale a organismului din care cauză determinarea ei prezintă importanță practică.

5.4.1. Metoda ascultatorie

Rezultatele cele mai exacte ale valorii presiunii arteriale se obțin cu ajutorul metodei ascultatorii introdusă de Korotkov (1905). Pentru identificarea valorilor presiunilor sistolică și diastolică se folosesc anumite sunete identificate în timpul ascultării arterei humerale în perioada decomprimării ei. În arterele necomprimate circulația sângelui nu este însoțită de vreun zgomot. Dacă artera este comprimată de manșeta manometrului se va auzi un sunet în ritmul bătăilor cordului în momentul în care presiunea din manșetă va scădea suficient pentru a permite trecerea sângelui. Pe măsură ce presiunea din manșetă scade sunetul suferă o serie de modificări care permit stabilirea presiunii din vas.

Material necesar: sfigmomanometru, stetoscop.

Sfigmomanometrul este format dintr-o cameră dublă de cauciuc învelită la exterior cu un material textil inextensibil fiind legată cu un manometru ce măsoară presiunea din cameră și o pară de cauciuc prevăzută cu un ventil pentru modificarea presiunii din manșetă.

Mod de lucru: Persoana examinată va sprijini mâna stângă pe o masă. Se aplică manșeta în jurul brațului fără a comprima țesuturile (Figura 50). Stetoscopul se aplică pe porțiune inferioară a arterei humerale, distal de manșetă și se pompează aer în manșetă până la dispariția pulsului.

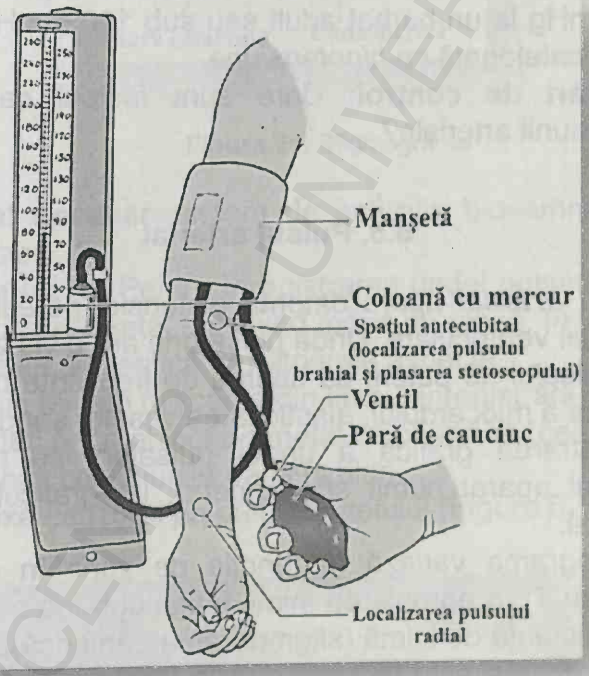


Figura 50. Măsurarea presiunii sangvine cu ajutorul sfigmomanometrului

După acesta scădem lent presiunea din manșetă cu ajutorul șurubului de descărcare urmărind indicațiile manometrului și zgomotele recepționate prin stetoscop. Indicația manometrului în momentul apariției primului zgomot constituie valoarea presiunii

sistolice. Continuând decomprimarea vasului zgomotele se amplifică, iar la un moment dat dispar.

Presiunea din manșetă indicată de manometru în momentul dispariției zgomotului constituie presiunea diastolică. Se repetă măsurarea de trei ori și se iau în considerație valorile minime obținute.

Valori normale: în medie presiunea sistolică a unui bărbat tânăr este de 120 mmHg, iar cea diastolică este de 80 mmHg (Guyton and Hall, 2006). O creștere a presiunii arteriale cu 15 mmHg peste cea sistolică și cu 8 mmHg peste cea diastolică este considerată ca *hipertensiune*. O scădere a presiunii arteriale sub 110 mmHg la un bărbat adult sau sub 100 mmHg la o femeie adultă este catalogată ca *hipotensiune*.

Întrebări de control: Care sunt factorii care determină valorile presiunii arteriale?

5.5. Pulsul arterial

Pulsul arterial apare datorită distensiei pereţilor arteriali în timpul sistolei ventriculare. Unda pulsatorie are o viteză de 4-6 m/s. Pe baza pulsului ne putem da seama de frecvenţa cardiacă, forţa de contracţie a miocardului, elasticitatea vaselor sanguine.

Înregistrarea grafică a undei pulsatorii se realizează cu ajutorul unui aparat numit *sfigmometru*, iar graficul se numeşte *sfigmogramă*.

Sfigmograma variază în funcție de zona în care se face înregistrarea: 1) în apropierea inimii (sfigmograma centrală) sau la o anumită distanță de inimă (sfigmograma periferică).

Sfigmograma este formată dintr-o linie ascendentă, verticală – ***ramura dicrotă*** și una descendentă care coboară gradat – ***ramura catacrotă***. Ramura anacrotă reprezintă începutul undei pulsului, în timp ce ramura catacrotă este înscrisă în timpul coborârii pârghiei, adică după ce vârful undei a fost depășit.

Ramura descendentă prezintă o undă negativă – ***crestătura dicrotă***, urmată de o undă pozitivă – ***unda dicrotă*** (Figura 51).

Crestătura dicrotă este dată de refluarea neînsemnată de scurtă durată a sângelui care închide valvulele aortice. Odată

împinse către cavitatea ventriculară valvele aortice sunt puse sub tensiune, mișcarea coloanei de lichid spre inimă este oprită brusc și sângele ricoșează de pe suprafața lor. Aceasta produce o modificare de presiune pozitivă care apare pe sfigmogramă ca unda dicrotă.

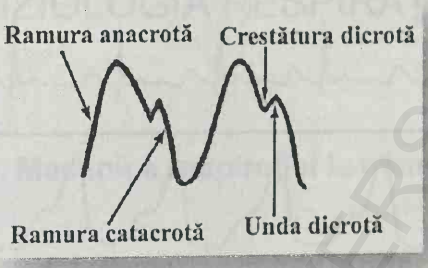


Figura 51. Sfigmograma

Material necesar: sistem de achiziție biosemnale BIOPAC MP 150, senzor

Mod de lucru: Pentru înregistrarea undei pulsatorii subiectul va sta în poziție relaxată, sprijinind mâna pe masă. În vederea unei bune înregistrări se verifică următoarele aspecte:

- trebuie evitate mișcările din timpul înregistrării
- scoateţi orice obiect de metal de pe mână (ceas, brăţară)
- verificaţi conexiunile de la cabluri.

Se va fixa senzorul pe pulpa degetului (Figura 52).

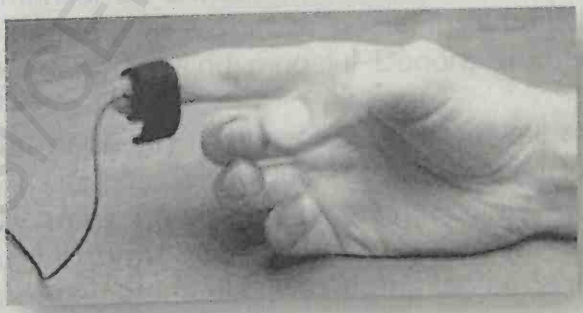


Figura 52. Conectarea senzorului pentru înregistrarea pulsului

Apoi se pasă pe butonul START, înregistrându-se semnalul biologic timp de 15 secunde. Se va observa sfigmograma periferică (Figura 53).

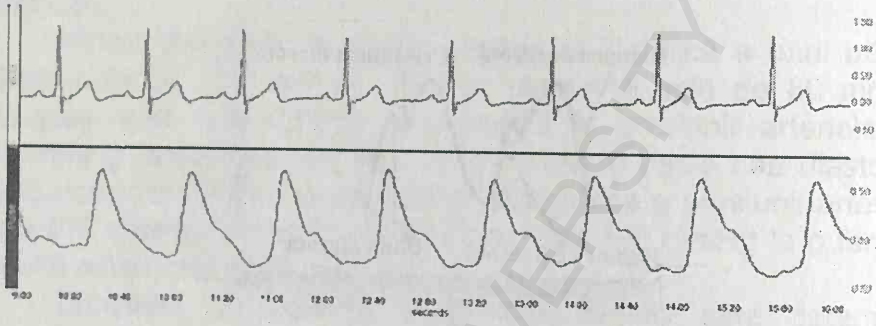


Figura 53. Înregistrarea sfigmogramei periferice

Pe sfigmograma obținută se va indica denumirea deflexiunilor, iar pe liniile verticale se va delimita începutul și durata sistolei și, respectiv, a diastolei ventriculare. Se vor evalua valorile absolute ale duratei fazelor.

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CAPITOLUL 6

FIZIOLOGIA RESPIRAȚIEI

6.1. Mecanica respiraţiei la mamifere

6.1.1. Experienţa lui Donders pentru demonstrarea rolului diafragmei

Pătrunderea aerului în plămâni şi eliminarea lui depind în întregime de modificările capacităţii cutiei toracice. Plămânii joacă un rol pur pasiv. Aerul este aspirat înăuntru şi împins afară, în concordanţă cu diferenţele de presiune dintre atmosferă şi aerul din plămâni, provocate de expansiunea sau contracţia cutiei toracice. Modificările dimensiunilor cutiei toracice se realizează prin intervenţia muşchilor respiratori. Plămânii urmează întocmai modificările cutiei toracice pe de o parte datorită presiunii negative interpleurale, valoarea căreia creşte tot mai mult odată cu mărirea cutiei toracice, iar pe de altă parte, datorită elasticităţii lor care permite plămânilor să urmeze în mod pasiv pereţii toracelui.Rolul muşchiului diafragm în respiraţie poate fi demonstrat prin experienţa lui Donders, folosind modelul Doders al cutiei toracice de mamifere (Figura 54).

Material necesar: un clopot de sticlă; o membrană de cauciuc; tub de sticlă; dop de cauciuc; baloane de cauciuc.

Mod de lucru: Se prepară din timp modelul cutiei toracice. El se prezintă sub forma unui clopot de sticlă, fundul căruia este prevăzut cu o membrană elastică, strâns legată în jurul clopotului. Introducem în clopot baloanele de cauciuc care comunică cu exteriorul prin intermediul unui tub de sticlă. Tubul de sticlă îl introducem prin orificiul făcut în dop, care închide ermetic gura clopotului.

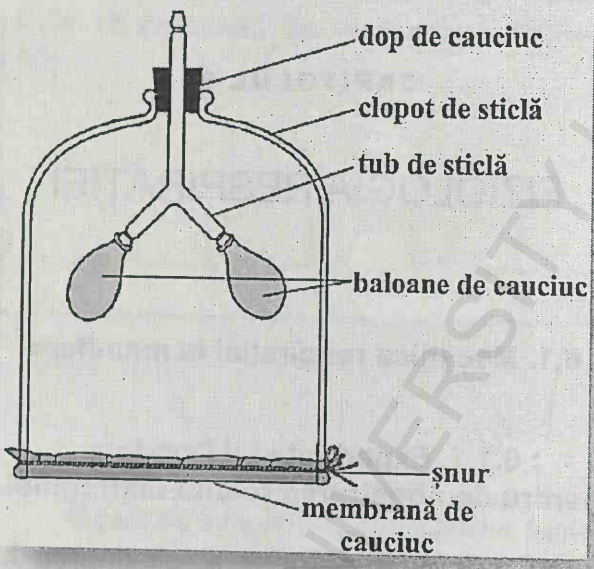


Figura 54. Model de cutie toracică

În acest model de cuşcă toracică pereţii clopotului modelează pereţii cutiei toracice, membrana de cauciuc – muşchiul diafragm, iar modificarea presiunii din spaţiul cuprins între pereţii clopotului şi baloaneimită modificarea presiunii interpleurale. Trebuie să reţinem că în condiţii normale, în jurul plămânilor nu se află aer.

Folosind acest model se vor efectua următoarele observaţii:

1. Prin coborârea şi ridicarea membranei de cauciuc (diafragmul) se imită modificările „presiunii interpleurale" care au loc în timpul inspiraţiei şi expiraţiei.
2. Prin coborârea „diafragmei" (inspiraţie) presiunea negativă din „spaţiul interpleural" creşte, iar baloanele se umflă. Prin ridicarea „diafragmei" are loc un proces invers.

Întrebări de control: Care este rolul muşchiului diafragm? Cum se modifică volumul cutiei toracice în timpul actului respirator?

6.2. Auscultaţia plămânilor

Deplasarea aerului în arborele respirator dă naştere la zgomote respiratorii, pe care le putem auzi, fie aplicând urechea direct pe cutia toracică (punând un câmp de auscultaţie), fie cu stetoscopul.

Trecerea turbulentă a aerului prin orificiul laringian produce un suflu (***suflutubar***). El poate fi reprodus dacă în respiraţie se pronunţa sunetul „h". La subiecţii sănătoşi acest sunet se aude la nivelul traheii, laringelui şi uneori deasupra omoplaţilor. În cazuri patologice, prin densificarea plămânilor (infiltraţii pulmonare în tuberculoză, pneumonie etc.) sunetul poate fi auzit şi în alte regiuni ale plămânilor.

În zona de expansiune maximă a plămânilor, în regiunea sinusurilor costodiafragmatice şi mai puţin la vârfurile plămânilor se produce ***murmurul vezicular***, care aminteşte de sunetul „f".

Material necesar: stetoscop.

Mod de lucru: Pentru ascultarea *suflului tubar*, stetoscopul se aplică pe trahee şi se notează fazele respiraţiei în care el este perceput. Ascultând plămânul pe toată suprafaţa cutiei toracice, se determină şi se notează pe schema cutiei toracice, în caiet, locurile în care se aude suflul tubar.

Murmurul vezicular se ascultă cu stetoscopul în oarecare regiune a cutiei toracice, cel mai bine la 5-7 cm mai jos de groapa axilară. Această ascultare se face pe spate, la unghiurile omoplaţilor,comparând murmurul vezicular în respiraţia liniştită şi în cea profundă. Fenomenele acustice se ascultă pe regiuni simetrice ale cutiei toracice. Locurile de ascultare se vor nota pe caiet (pe schema plămânilor) şi se vor marca zonele unde sunetul se aude distinct.

6.3. Volume şi capacităţi respiratorii. Spirometria

În timpul unei respiraţii normale sau forţate, se introduc şi se expulzează din plămâni cantităţi de aer caracteristice, care din punct de vedere didactic şi practic sunt împărţite în *volume* şi *capacităţi*. Volumele reprezintă cantităţi de aer din anumite momente ale ciclului respirator, iar capacităţile sunt combinaţii de volume.

6.3.1. Volume respiratorii

Volumul curent (aer curent sau aer respirator) (AC) este cantitatea de aer (aproximativ 500 ml) care este inspirată sau expirată în timpul unui act respirator normal.

După o inspiraţie normală se mai poate inspira forţat o cantitate de aer egală cu aproximativ 3000 ml, care poartă denumirea de aer complementar sau ***volum inspirator de rezervă (VIR).***

După o expiraţie normală se mai poate elimina forţat aproximativ 1100 ml aer, denumit ***volum expirator de rezervă (VER).***

După expirarea VER în plămâni mai rămâne un volum de aproximativ 1200 ml aer, denumit ***volum rezidual (VR)*** sau aer rezidual. Prin deschiderea spaţiului pleural, se produce un pneumotorax, plămânul se retractă în jurul hilului şi expulzează o cantitate de aer, denumită ***volum de colaps.*** Ceea ce mai rămâne în plămâni constituie ***volumul minimal.*** Ambele sunt fracţiuni ale volumului rezidual. Determinarea aerului minimal prezintă importanţă pentru medicina legală. Un ţesut pulmonar, care conţine aer minimal, pluteşte la suprafaţa apei (proba docimaziei pozitivă). Plămânul unui nou-născut, care nu a respirat niciodată, nu conţine aer minimal. În acest caz proba docimaziei este negativă (plămânul nu pluteşte).

6.3.2. Capacităţi respiratorii

Capacitatea vitală (CV) cuprinde volume expirate forţat, după o inspiraţie maximă. Ea rezultă din suma volumul respirat curent,volumului inspirator de rezervă şi volumului expirator de rezervă.

CV =VC+VIR+VER

Mărimea capacităţii vitale (CV) poate fi calculată cu ajutorul formulelor:

1. bărbat: CV(l) = înălţimea (cm) x 0,052 – vârsta x 0,022 – 3,60
2. femeie: CV (l) = înălţimea (cm) x 0,041 – vârsta x 0,018 – 2,68

Din formulele indicate mai sus, se observă că CV depinde, printre altele, de sex, vârstă şi înălţime.

Capacitatea inspiratorie (CI) cuprinde aerul curent şi VIR.

CI = VC+VIR

Capacitatea reziduală funcţională (CRF) este suma volumului rezidual şi a volumului expirator de rezervă.

CRF = VR + VER

Capacitatea pulmonară totală (CPT) cuprinde toate volumele menţionate, fiind cantitatea de aer care se găseşte în plămâni la sfârşitul unei inspiraţii forţate.

CPT = CV+VR

Volumele şi capacităţile respiratorii sunt indicate în Figura 55.

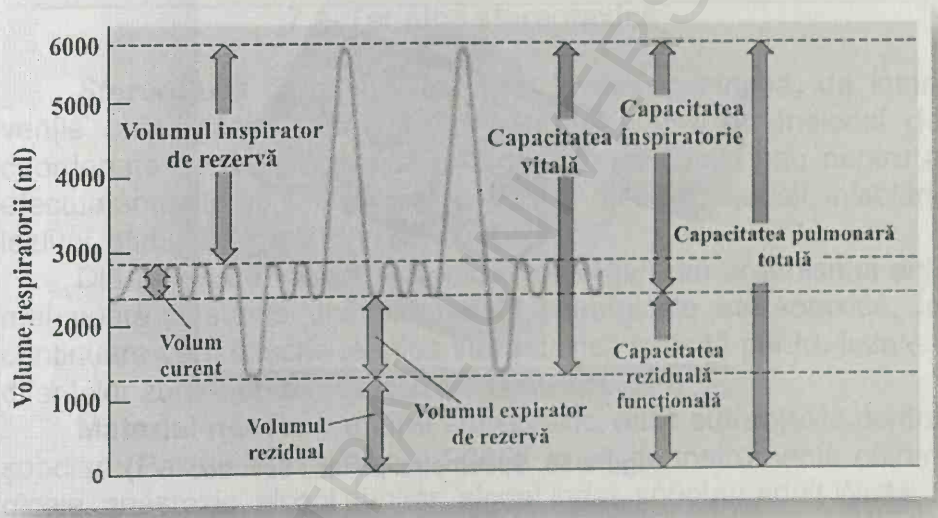


Figura 55. Volume și capacități respiratorii

Cu excepţia volumului rezidual, toate celelalte volume şi capacităţi se măsoară cu ajutorul ***spirometrului***, iar tehnica utilizată este ***spirometria.***

Material necesar: spirometru, pensă nazală, alcool, vată.

Mod de lucru:Spirometrul utilizat este **Spirodoc** (Figura 56). Se vor introduce înainte de testare vârsta, înălţimea, greutatea şi sexul fiecărui individ, după care acesta va sufla energic în turbina aparatului.

Se dezinfectează tubul de plastic al turbinei aparatului, după care se suflă energic. Datele obţinute sunt interpretate pe computer sau pot fi printate.

Măsoară cei mai importanţi parametri spirometrici printre care:

- **FVC** (capacitatea vitală),
- **FEV1** (volumul de aer expirat forţat/sec)
- **FEV1%** (raportul dintre FEV1/FVC; valori normale 75-80%)
- **PEF** (volumul expirator maxim)
- **FEF25-75** (volumul expirator forţat)
- **FET** (durata expiraţiei măsurată în secunde)

Figura 56. Spirometrul portabil Spirodoc

Întrebări de control: Care sunt volumele şi capacităţile pulmonare? Ce se înţelege prin capacitatea vitală pulmonară?

CAPITOLUL 7

FIZIOLOGIA ENCEFALULUI

7.1. Tehnica stereotaxică

Stereotaxia reprezintă o formă invazivă, minimă, de intervenție chirurgicală care utilizează un sistem tridimensional de coordonate pentru a localiza în organism ținte mici sau pentru a efectua anumite acțiuni asupra lor cum ar fi ablații, biopsii, injectări, leziuni, stimulări, implantări etc.

Din punct de vedere teoretic orice organ din organismul animal poate fi supus unei intervenții chirurgicale stereotaxice. În continuare vom descrie tehnica stereotaxică folosită pentru lezarea diferitelor zone nervoase din creierul de șobolan.

Material necesar: aparat stereotaxic, atlas stereotaxic pentru șobolan (Paxinosand Watson, 2005), trusă de instrumente chirurgicale, anestezic, alcool sanitar, alcool iodat, șobolan adult Wistar.

Mod de lucru: Se anesteziază șobolanul Wistar cu nembutal (45 mg/kg g.c., i.p., Sigma Germania). Cu o mașină electrică sau foarfece se tunde capul animalului începând din partea posterioară a ochilor până în zona posterioară a urechilor.

7.1.1. Fixarea animalului în aparatul stereotaxic

Fixarea capului animalului în bare de urechi este manipularea cea mai dificilă din tot procedeul chirurgical. Se prinde capul animalului cu degetul mare și arătător de la mâna stângă și introducem bara din partea dreaptă a aparatului stereotaxic (Figura 57) în canalul auditiv drept.

BOTANICAL UNIVERSITY LIBRARY

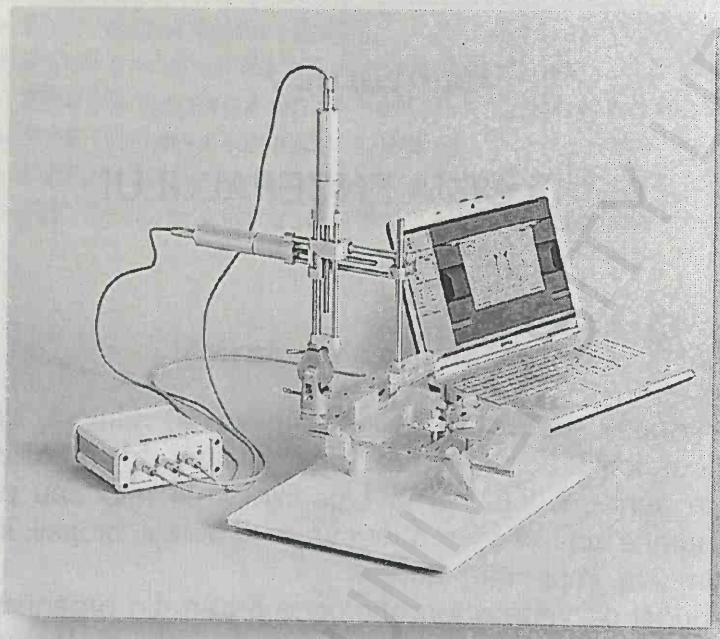


Figura 57. Aparat digital stereotaxic (Stoelting)

Dacă vârful barei a pătruns corect în canalul auditiv atunci apăsând capul în direcția barei nu-l vom putea deplasa în sus și în jos, anterior sau posterior. Continuând cu mâna stângă să presăm capul spre bara dreaptă a aparatului orientăm urechea stângă a animalului în direcția axei barei stângi a aparatului stereotaxic. Cu mâna dreaptă introducem bara stângă în canalul auditiv stâng aplicând o ușoară presiune în direcția craniului.

Pentru a verifica dacă vârfurile barelor sunt corect plasate în canalele auditive se prinde nasul animalului și încercăm să-l mișcăm puternic înainte și înapoi. Dacă animalul este fixat corect este imposibil de a-l scoate din bare, iar capul nu se deplasează. După fixarea capului în bare se aduce suportul maxilarului în spatele incisivilor și se fixează clema pentru nas.

Se unde cu alcool iodat tegumentul capului după care-l secționăm cu un bisturiu sau foarfece pe o distanță de 2-2,5 cm începând din spatele ochilor ceea ce va permite exteriorizarea ambelor puncte craniometrice bregma și lambda.

După secționarea tegumentului se rade țesutul conjunctiv al periostului care aderă la os. Se continuă raderea osului până când osul rămâne curat și ne apar vizibile bregma și lambda. Eventualele hemoragii se opresc prin tamponare cu vată sterilă.

Punctul bregma reprezintă punctul de intersecție la mijloc a oaselor frontale și parietale. Punctul lambda reprezintă punctul de intersecție a suturii intraparietale cu sutura lambdoidă. Punctul bregma servește ca punct de reper stereotaxic (Figura 58).

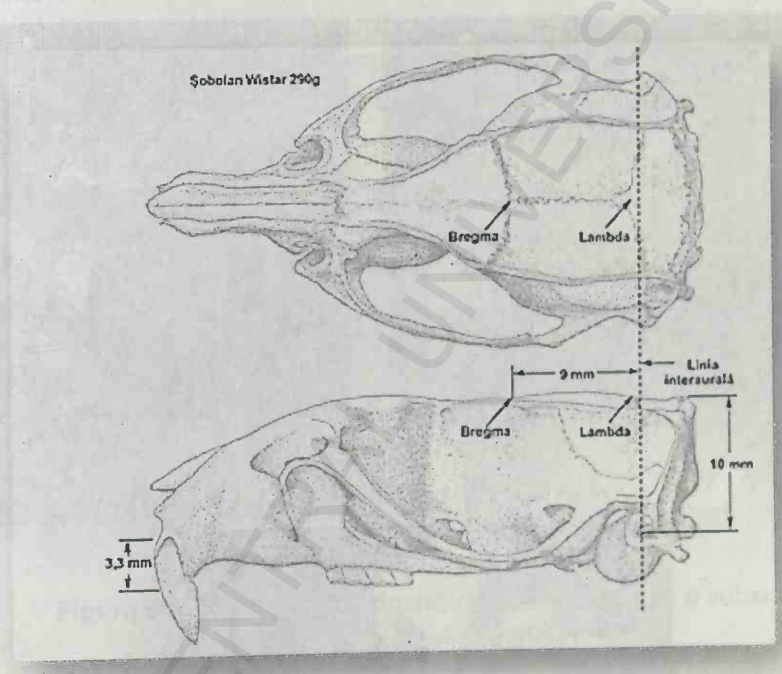


Figura 58. Vedere dorsală şi laterală a craniului şobolanuluiWistar de 290 g
cu poziţiile punctelor bregma, lambda şi planul interaural
(Paxinos şi Watson, 2005).

Distanța dintre punctele bregma și lambda poate fi folosită pentru a afla factorul de corecție a coordonatelor stereotaxice pentru șobolani cu creier considerabil mai mic decât cel folosit la întocmirea atlasului:

Coordonate corecte =

$$\text{x coord} \frac{\text{Bregma} - \text{Lambda (șobolan dat)}}{\text{Bragma} - \text{Lambda (șobolan din atlas)}} \text{onatele din atlas}$$

Atlasul streotaxic al lui Paxinos și Watson a fost efectuat pe șobolani masculi cu greutatea de 290 g. Fixarea capului, secționarea tegumentului capului și raderea țesutului conjunctiv al periostului pot fi evidențiate în Figura 59.

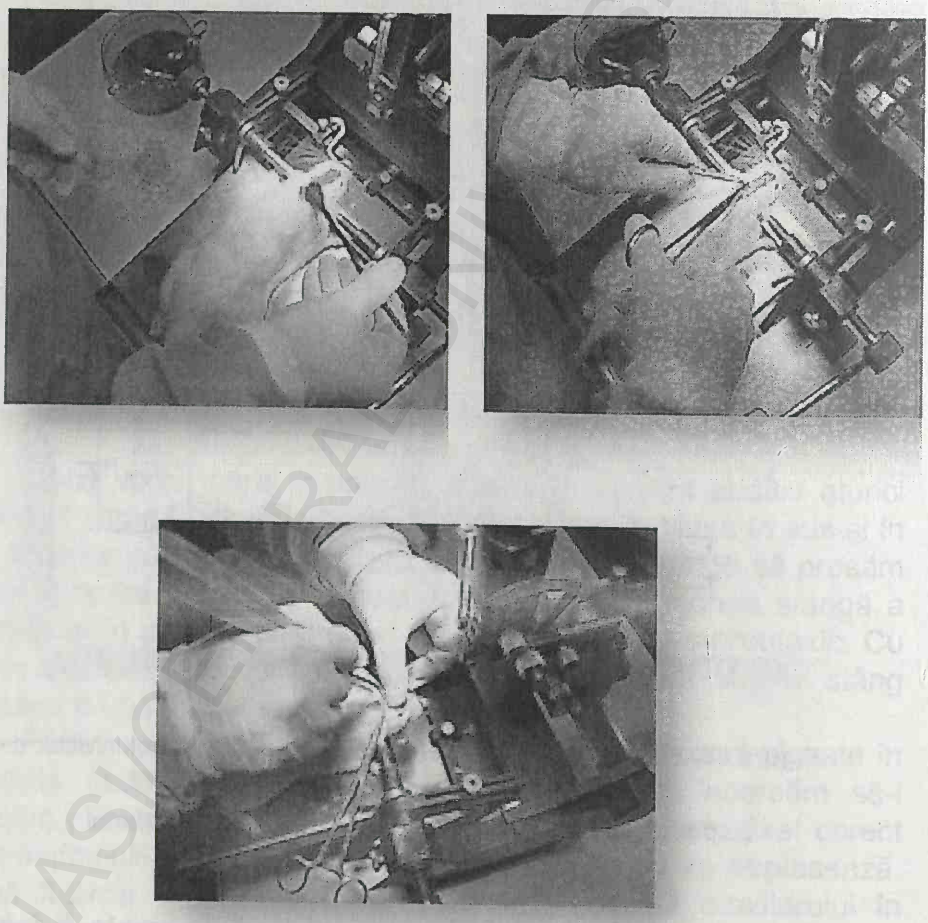


Figura 59. Fixarea capului, secționarea tegumentului capului și raderea țesutului conjunctiv al periostului (fotografii originale)

7.1.2. Marcarea și trepanarea punctelor coordonate pe craniu

Se fixează un ac în portelectrod pe care-l deplasăm în coordonatele anteroposterioare și laterale determinate de atlasul stereotaxic. Se marchează pe craniu cu un creion sau ac locurile care urmează a fi trepanate. În punctele marcate se trepanează craniul cu o freză dentară. Trepanarea craniului se face până la nivel de duramater. După trepanare se introduce acul microseringii Hamilton în zona dorită, se efectuează intervenția necesară (administrarea substanței), după care se extrage acul seringii și se suturează tegumentul. Se administrează postoperator un antibiotic pentru a evita infecțiile (Figura 60).

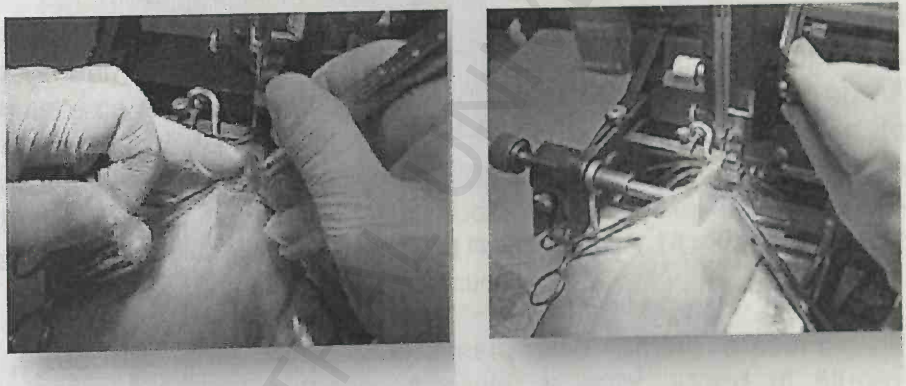


Figura 60. Trepanarea și administrarea intracraniană a substanțelor chimice (fotografii originale)

7.2. Metode de analiză a performanțelor cognitive ale animalelor de laborator

7.2.1. Testul labirintului Y

În acest test se utilizează un aparat special construit pentru studiul reacţiilor şobolanilor.

Aparatul constă dintr-un labirint care, privit din partea superioară, are aspectul literei Y, de unde vine şi numele testului.

Aparatul este confecţionat din plastic sau oţel inoxidabil şi este vopsit în negru. El prezintă o zonă centrală sub formă de triunghi echilateral şi trei braţe, fiecare braţ al aparatului (notat cu literele A, B, C) fiind de 35 cm lungime, 25 cm înălţime şi 10 cm lăţime. Cele trei braţe sunt îmbinate în unghi egal, aparatul având aspectul din Figura 61.

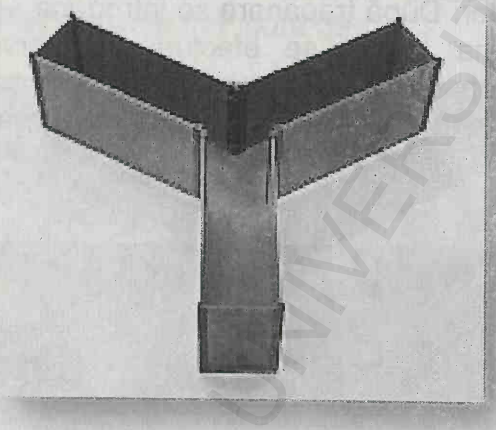


Figura 61. Aparatul folosit pentru efectuarea testului labirintului Y (Coulbourn Instruments)

Fiecare animal este plasat la capătul unuia din braţe, de regulă în braţul notat cu litera A, şobolanul fiind orientat spre exteriorul aparatului. Se lasă animalul să se deplaseze liber timp de 8 minute, timp în care vom nota secvenţa braţelor vizitate. Se consideră că un animal a intrat într-un braţ în momentul în care toate cele patru membre ale animalului sunt situate în braţ. După trecerea celor 8 minute testul se încheie, iar animalul este scos din labirint. După efectuarea testului asupra fiecărui şobolan, trebuie curăţat foarte bine (cu cârpă şi alcool) planşeul labirintului, pentru a îndepărta eventualele urme de urină. Urina conţine feromoni, iar dacă nu curăţăm bine planşeul labirintului, prezenţa feromonilor poate influenţa comportamentul şobolanilor luaţi ulterior în lucru.

Comportamentul de alternare spontană este definit ca intrarea succesivă în cele trei braţe (notată în seturi de triplet: ABC, BCA, CAB, CBA, ACB, BAC).

Procentul de alternare spontană este definit ca raportul dintre numărul de alternări efectuate şi cele posibile (definit ca numărul total de intrări în braţe minus doi), totul de înmulţit cu 100 (Yamada şi colab., 1996; Hrițcu și colab., 2012). Testul este bazat pe tendinţa rozătoarelor de a explora braţul labirintului Y care a fost mai puţin vizitat. Prin acest test putem obţine date despre *memoria de scurtă durată* (Nitta şi colab., 1994; Hrițcu și colab., 2012).

7.2.2. Testul labirintului cu braţe radiale

Acest test a fost conceput de Olton şi Honig în anul 1978. Labirintul folosit poate avea 8, 12 sau 16 braţe.

Labirintul folosit în prezentul studiu (Figura 62) este alcătuit din 8 braţe, numerotate de la 1 la 8 (fiecare având lungimea de 48 cm şi lăţimea de 10 cm), dispuse radiar în jurul unei suprafeţe circulare ce are diametrul de 32 cm. Podeaua labirintului este vopsită în negru, atât în zona centrală, cât şi în cele 8 braţe. Aparatul este plasat la 40 cm de suprafaţa solului şi este înconjurat de diferite obiecte, a căror poziţie nu va fi modificată pe toată durata experimentului.

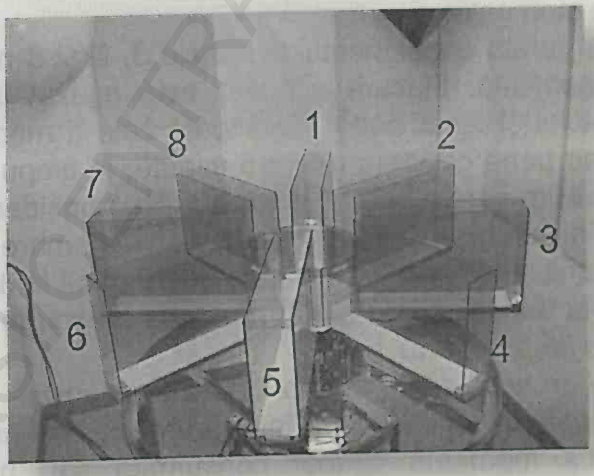


Figura 62. Aparat folosit pentru testul labirintului cu braţe radiale (Coulbourn Instruments)

La capătul fiecărui braţ se aşează câte o cupă, care, în anumite braţe (şi anume braţele 1, 2, 4, 5, şi 7), conţine câte o singură doză de 50 mg hrană. De asemenea, braţele 1, 2, 4, 5, şi 7 au fost marcate prin aşezarea la intrarea în braţe a unei hârtii albe cu dimensiunea de 10×5 cm. Braţele 3, 6 şi 8 prezintă la extremităţi câte o cupă lipsită de hrană.

Înainte de începerea testului, animalele au fost supuse unui regim de slăbire, până când greutatea corporală a scăzut până la 80-85 % din greutatea iniţială. În această perioadă, în care şobolanii au primit mai puţină hrană, apa a fost administrată *ad libitum*.

După ce greutatea corporală a ajuns la 80-85 % din greutatea iniţială, grupuri de câte 4 animale au fost lăsate timp de 5 minute, zilnic, pe parcursul a 4 zile să exploreze liber labirintul, pentru a se obişnui cu aparatul. În această perioadă s-au pus bucăţele de momeală, la început atât în zona centrală a labirintului, cât şi în braţe, iar apoi, în mod gradat, momeala a fost pusă numai spre capetele braţelor.

După această perioadă de acomodare, se începe efectiv testul. În timpul testului doar braţele marcate (numerotate 1, 2, 4, 5, şi 7) conţin o singură bucată de hrană, drept momeală, aşezată într-o cupă, în timp ce în celelalte braţe (numerotate 3, 6 şi 8) cupa nu va conţine momeală.

Pe toată durata experimentului, braţele 3, 6 şi 8 nu vor conţine niciodată momeală. Fiecare şobolan este aşezat individual în centrul labirintului şi lăsat până când toate cele 5 momeli au fost consumate sau până când au trecut 5 minute. În timpul testului se notează braţele în care a intrat şobolanul. Se consideră că şobolanul a intrat într-un braţ dacă toate cele patru membre au pătruns în braţ. Şobolanii sunt testaţi zilnic, timp de 10 până la 30 de zile.

Prin acest test investigăm atât *memoria de scurtă durată*, cât şi *memoria de lungă durată*.

Numărul de erori ale memoriei de lucru (o eroare a memoriei de lucru este definită ca reintrarea într-un braţ ce conţine momeală, indiferent dacă momeala a fost consumată sau nu anterior) reprezintă o măsură a memoriei de scurtă durată, deoarece în timpul fiecărui antrenament şobolanul trebuie să memoreze care braţ, ce conţine momeală, a fost deja vizitat şi care nu a fost vizitat (Foyet, Hrițcu și colab., 2011).

Numărul de erori ale memoriei de referinţă (o eroare a memoriei de referinţă este definită ca intrarea într-un braţ care nu a conţinut niciodată momeală) ne dă informaţii despre memoria de lungă durată pentru informaţia care rămâne constantă în timpul fiecărui antrenament, deoarece şobolanul trebuie să memoreze poziţia fiecărui braţ ce conţine momeală.

Timpul necesar pentru a consuma toate cele cinci momeli este, de asemenea, înregistrat.

7.2.3. Testul labirintului elevated plus maze

Acest test face parte din categoria testelor comportamentale ce studiază stările de anxietate ca şi componentă a proceselor cognitive (Hrițcu și colab., 2012). Aparatul constă din 4 braţe de plexiglas dispuse în formă de cruce şi o zonă centrală, cu dimensiunile de 10 x 10 cm. Dintre cele 4 braţe, două sunt *„deschise"* (50 x 10 cm), iar două sunt *„închise"* de pereţi ce au o înălţime de 40 de cm. Pentru a permite iluminarea şi observarea animalului, braţele „închise" sunt descoperite la partea lor superioară. De asemenea, braţele de acelaşi tip sunt situate unul în continuarea celuilalt (Figura 63).

Figura 63. Aparat folosit pentru testul labirintuluielevated plus maze (Coulbourn Instruments)

Testul se bazează pe conflictul care apare între tendinţa şobolanului de a explora labirintul şi tendinţa de a evita un stimul nou ce poate fi adversiv. În general, este bine ca aparatul să fie plasat într-o cameră goală pentru a nu influenţa în nici un fel comportamentul anxiolitic sau antianxiolitic al şobolanului.

Dacă labirintul nu este ridicat la o anumită înălţime, iar şobolanul poate vedea solul clar, animalul va sări pur şi simplu din labirint. De aceea, atât în cadrul acestui test, cât şi în cadrul radialului, se recomandă ca braţele labirintul să fie situate la o înălţime de 40-60 de cm faţă de sol. Această distanţă variază în funcţie de nivelul de luminozitate al camerei, de consistenţa solului, dar şi în funcţie de tratamentul primit de animal.

Testul propriu-zis constă în plasarea animalului în zona centrală a labirintului, înspre direcţia unui braţ deschis. Animalul este lăsat 5 minute liber în labirint.

În cadrul acestui test se urmăresc următorii factori:

- Numărul de intrări în braţele deschise;
- Numărul de intrări în braţele închise;
- Timpul petrecut în braţele deschise;
- Timpul petrecut în braţele închise;

Se consideră o intrare în braţ atunci când şobolanul intră cu toate cele patru membre în braţul respectiv. Dacă un şobolan cade în mod accidental din labirint, acesta va fi scos din calcul.Având în vedere că acest test este folosit pentru a studia stările de anxietate ca şi componentă a proceselor cognitive, el este efectuat o singură dată.

7.2.4. Testul înotului forțat (forcedswimming test)

Cel mai utilizat model animal pentru depresie este testul înotului forțat (forcedswimming test). Raționamentul teoretic al modelului este acela deexpunere la un stres necontrolat care rezultă în comportamente care stimulează anhedonia, un sindrom tipic al depresiei umane. În prima zi de desfășurare a testului șobolanii sunt plasați individual într-un cilindru (diametru 30 cm, înălțimea 59 cm) care conține apă la temperatura de 26°C (Figura 64). Înălțimea coloanei de apă în cilindru este de 25 cm. Animalele vor fi lăsate

să înoate timp de 15 minute după care sunt scoase din apă, uscate și plasate în cuștile de depozitare.

Procedura se va repeta după 24h, însesiuni de 6 minute pentru fiecare animal. În timpul acestor sesiuni se vor înregistra următoarele răspunsuri comportamentale: 1) *timpul de imobilitate* (intervalul de timp în care animalul execută mișcări minime pentru a-și menține capul la suprafața apei) și 2) *timpul de mobilitate* (intervalul de timp în care animalul execută mișcări active de înot) (Hrițcu și colab., 2012).

Figura 64. Aparat folosit pentru testul înotului forțat

7.2.5. Testul comportamentului de evitare pasivă prin antrenamente multiple

Testul se bazează pe inhibarea reflexului înnăscut de evitare a luminii, printr-un prealabil şoc electric. Aparatul pe care îl folosim pentru efectuarea testului de evitare pasivă (Figura 65) constă din două compartimente, primul fiind iluminat, iar cel de-al doilea fiind întunecat. Fiecare compartiment are 25 cm lungime, 15 cm lăţime şi 15 cm înălţime.

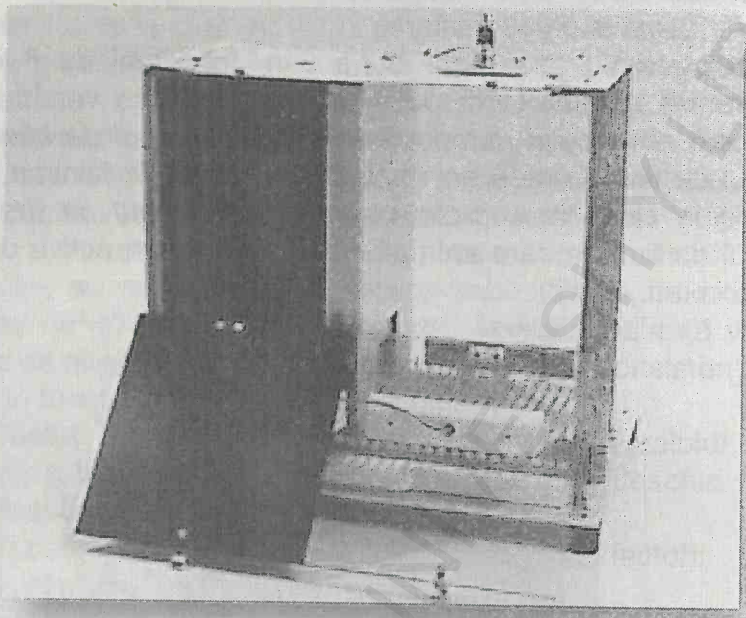


Figura 65. Aparatul folosit pentru testul comportamentului de evitare pasivă
prin antrenamente multiple (Coulbourn Instruments)

De asemenea, fiecare compartiment este prevăzut cu un grilaj metalic pe podea. Cele două compartimente comunică între ele printr-o deschidere centrală, prevăzută cu o uşă de tip ghilotină.

Şobolanii care vor fi folosiţi în testul de evitare pasivă trebuie mai întâi selecţionaţi. Se vor alege doar indivizii care au reflexul de evitare a luminii bine evidenţiat. Pentru a selecţiona indivizii care au reflexul de evitare a luminii bine evidenţiat, se plasează fiecare individ în camera luminată şi se lasă 180 de secunde. Datorită motivaţiei înnăscute de evitare a luminii, şobolanii pătrund în compartimentul întunecat în intervalul a câteva secunde. Şobolanii care stau mai puţin de 120 de secunde în compartimentul întunecat sunt excluşi din experiment.

Testul se desfăşoară în două etape: *testul de achiziţie* şi *testul de reţinere.*

În *testul de achiziţie* comunicarea dintre cele două compartimente este deschisă. Fiecare animal este plasat individual în compartimentul luminat, orientat fiind spre compartimentul întunecat. Se lasă să intre şobolanul în compartimentul întunecat. Se închide comunicarea dintre cele două compartimente şi se trece animalul în compartimentul luminat. După 30 desecunde se deschide uşor comunicarea şi se lasă şobolanul să intre în compartimentul întunecat. După ce şobolanul a intrat în compartimentul întunecat, se închide compartimentul întunecat şi se administrează un şoc electric de 0,3 mA timp de 5 secunde. Se reintroduce şobolanul în compartimentul luminat, iar după 30 de secunde se deschide comunicarea dintre cele două compartimente. Se notează latenţa cu care animalul intră în compartimentul întunecat. Dacă animalul nu intră în compartimentul întunecat în timp de 120 de secunde, testul se încheie. Dacă animalul a intrat în compartimentul întunecat mai devreme de 120 de secunde, se repetă administrarea şocului electric până la obţinerea timpului de latenţă de 120 de secunde.

Numărul de antrenamente din testul de achiziţie (dat de numărul de curentări) este folosit ca indicator al achiziţiei.

Testul de reţinere se face la 24 de ore după ce a fost efectuat testul de achiziţie. Testul se repetă şi la 72 de ore după achiziţie. În acest test comunicarea dintre cele două compartimente este închisă. Fiecare animal este introdus în compartimentul luminat şi după 30 de secunde se deschide uşa dintre cele două compartimente. Se notează timpul de latenţă cu care animalul intră în compartimentul întunecat pe durata totală de 300 secunde. Timpul de latenţă măsurat în testul de reţinere este folosit drept indice de reţinere a experienţei de achiziţie. Un timp de latenţă mai mare (mai apropiat de valoarea de 300 secunde) indică o mai bună reţinere a experienţei de achiziţie. (Hrițcu și colab. 2007).

Prin acest test obţinem informaţii despre *memoria de lungă durată*.

7.2.6. Testul comportamentului de evitare activă (shuttle boxe cage)

Aparatul utilizat pentru evaluarea comportamentului de evitare activă este construit din Plexiglas având dimensiunile 66 x 33 x 39 cm. Podeaua cuștii este alcătuită din bare metalice cu diametrul de 2 mm fiind distanțate la 0,5 cm între ele. Cușca este împărțită în două compartimente egale separate printr-un perete prevăzut cu o deschidere dreptunghiulară. În fiecare compartiment podeaua este conectată la sursa de curent (Figura 66).

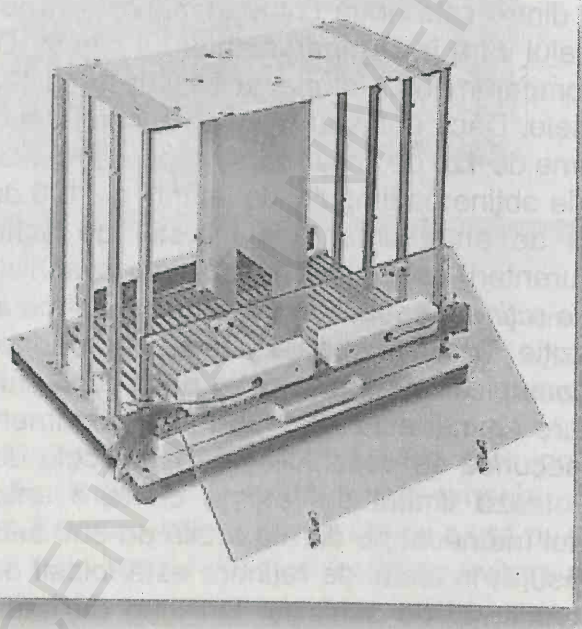


Figura 66. Aparatul folosit pentru testul comportamentului de evitare activă (Coulbourn Instruments)

În partea de sus a cuștii se găsește o sonerie care furnizează stimulii auditivi (*stimuli condiționați*). Șobolanii sunt introduși individual în cușcă și sunt lăsați să exploreze cușca timp de 180 secunde. Fiecare animal va efectua 10 antrenamente pe zi în timpul cărora vor învăța să evite stimulii electrici (*stimuli necondiționați*) prin trecerea dintr-un compartiment în altul.

Fiecare antrenament începe cu o sesiune de 5 secunde stimul sonor urmată de o sesiune de 5 secunde stimul electric de 0,3 mA furnizat de un shocker programabil (Coulbourn Animal Test Cage Grid Floor Shocker). După 60 de secunde se va iniția un nou antrenament.

Dacă șobolanul trece dintr-un compartiment în altul în intervalul de 5 secunde de la prezentarea excitantului condiționat, se întrerupe imediat acțiunea excitantului condiționat, iar răspunsul se înregistrează ca *răspuns condiționat de evitare (RCE)*.

Se va înregistra și *latența RCE*, adică intervalul de timp din momentul aplicării excitantului condiționat până în momentul declanșării RCE (Hrițcu și colab., 2008).

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

SUMMARY

This laboratory manual entitled *Experimental Animal Physiology* was prepared to be used for the students of the Faculty of Biology, Iasi, to understand the practical aspects of knowledge gained during the Animal Physiology course.

This laboratory manual contains seven chapters that are planned to illustrate some physiological facts such as: muscle physiology, sensory systems, blood physiology, nutrition, respiration, learning and memory tasks.

The laboratory protocols include a variety of special features that are designed to stimulate interest in the subject matter, to involve students in the learning process, and to guide them through the planned activities.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BIBLIOGRAFIE

1. Cotor, G. (2003), *Lucrări practice de fiziologie – simulator*, Editura Monitor, București, pp. 24-32.
2. Foyet, H.S., **Hritcu, L.**, Ciobica, A., Stefan, M., Kamtchouing, P., Cojocaru, D. (2011), *Methanolic extract of Hibiscus asper leaves improves spatial memory deficits in the 6-hydroxydopamine-lesion rodent model of Parkinson's disease*, Journal of Ethnopharmacology, 133(2), pp. 773-779.
3. Fox, S. (2010), *A Laboratory Guide to Human Physiology: Concepts and Clinical Applications*, 14 edition, McGraw-Hill Science Publisher, pp. 160-500.
4. Guyton, A.C., Hall, J.E. (2006), *Textbook of Medical Physiology*, 11 edition, Elsevier Publisher, pp. 400-500.
5. Hefco, V. (1976), *Fiziologie experimentală: Funcţiile de relaţie*, Editura Universității „Alexandru Ioan Cuza" Iaşi, pp. 5-160.
6. Hefco, V. (1977), *Fiziologie experimentală: Respiraţia, digestia, metabolismul, excreţia, sistemul endocrin*, Editura Universității „Alexandru Ioan Cuza" Iaşi, pp. 2-45.
7. Hefco, V. (1975), *Lucrări practice de fiziologie a animalelor şi a omului: sângele, inima, circulaţia sanguină*, Editura Universității „Alexandru Ioan Cuza" Iaşi, pp. 5-75.
8. **Hrițcu, L.**, Hefco, V. (2007), *Elemente de fiziologia animalelor şi a omului – funcţii de relaţie*, Editura PIM (acreditată CNCSIS, cod CNCSIS 66), Iaşi, p. 301.
9. **Hrițcu, L.** (2010), *Fiziologia animalelor şi a omului – sistemul endocrin, reproducerea şi funcţiile de nutriţie*, Editura Tehnopress (acreditată CNCSIS, cod CNCSIS 89), Iaşi, p. 392.
10. **Hrițcu, L.** (2011), *Neurofiziologie. Rolul unor neurotransmițători și zone nervoase în modularea proceselor cognitive și imunitare*, Editura Universității „Alexandru Ioan Cuza" Iaşi, p. 231.
11. **Hritcu, L.**, Cioanca, O., Hancianu, M. (2012), *Effects of lavender oil inhalation on improving scopolamine-induced spatial memory impairment in laboratory rats*, Phytomedicine, 19(6), pp. 529-534.

BCU LIBRARY

12. **Hritcu, L.**, Ciobica, A., Artenie, V. (2008), *Effects of right-unilateral 6-hydroxydopamine infusion-induced memory impairment and oxidative stress: relevance for Parkinson's disease*, Central European Journal of Biology, 3(3), pp. 250-257.
13. **Hritcu, L.**, Clicinschi, M., Nabeshima, T. (2007) *Brain serotonin depletion impairs short-term memory, but not long-term memory in rats*, Physiology&Behavior, 91(5), pp. 652-657.
14. Martin, T. (2002), *Laboratory Manual by Martin to accompany Hole's Essentials of Human Anatomy and Physiology* (Spiral-bound), 8 edition, McGraw-Hill Publisher, pp. 100-450.
15. Martini, F.H. (2001) *Fundamentals of Anatomy&Physiology*, 5 edition, PretinceHall Publisher, pp. 691-895.
16. Misăilă, C., Dumitru, G. (2010), *Fiziologia animalelor și a omului. Lucrări practice*, Editura Tehnopress, pp. 70-169.
17. Silverthorn, D.U. (2001) *Human Physiology. An integrated approach*, 2 edition, PretinceHall Publisher, pp. 281-383.

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

TIPARUL EXECUTAT LA
IMPRIMERIA EDITURII UNIVERSITĂȚII
„ALEXANDRU IOAN CUZA" DIN IAȘI
700109 Iaşi, Pinului 1A, tel./fax 0232 314947
Apărut: 2013
Comanda:123

Informaţii şi comenzi:
www.editura.uaic.ro
editura@uaic.ro

B.C.U. „M. EMINESCU" IAŞI

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Lucian Hriţcu

FIZIOLOGIE ANIMALĂ EXPERIMENTALĂ

Lucrarea *Fiziologie animală experimentală* reprezintă un îndrumător de lucrări practice de laborator pentru studenţii Facultăţii de Biologie, Iaşi, în vederea demonstrării practice a unor aspecte din cadrul cursului de *Fiziologie animală generală*.

La redactarea acestei lucrări s-au avut în vedere următoarele aspecte: de a demonstra procesele fiziologice atât la animale, cât şi la om; de a prezenta studenţilor unele metode moderne şi echipamente utilizate în studiul fiziologiei animalelor; de a stimula participarea activă a studenţilor în înţelegerea fenomenelor studiate.

www.editura.uaic.ro

9 789737 038494

Editura Universităţii „Alexandru Ioan Cuza" Iaşi

BCU IASI/C